

Trabalho de Conclusão de Curso

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES E SANGUÍNEOS DE NÍQUEL EM INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES – ESTUDO PILOTO

Heloisa Aparecida de Carvalho Krieger



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Heloisa Aparecida de Carvalho Krieger

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES E SANGUÍNEOS DE NÍQUEL EM
INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES – ESTUDO PILOTO**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Filipe Ivan Daniel

Co-orientadora: Profa. Dra. Claudia Regina dos Santos

Florianópolis

2014

Heloisa Aparecida de Carvalho Krieger

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES E SANGUÍNEOS DE NÍQUEL EM
INDIVÍDUOS FUMANTES E NÃO FUMANTES – ESTUDO PILOTO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 13 de novembro de 2014.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Filipe Ivan Daniel,
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Rodrigo Otávio Alves de Lima,
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Mestranda Caroline Zimmermann,
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

Mestranda Emanuely da Silva Chrun,
Suplente
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu namorado, os quais amo acima de tudo e são minhas inspirações diárias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, **Sandro de Carvalho Krieger** e **Núbia Aparecida da Silva de Carvalho Krieger**, que sempre apoiaram em todos os momentos da minha vida e torcem pelo meu sucesso. Por incentivar e proporcionar o meu estudo. Tudo que conquistei devo ao esforço de vocês, minhas vitórias também suas.

Ao meu namorado **Ricardo Pavesi**, que há muito tempo me acompanha; pelo nosso amor, amizade, parceria e companheirismo. Obrigada por se fazer presente nos momentos importantes da minha vida.

À minha cachorrinha **Milly**, que partiu este ano. Aquela que sempre foi uma amiga fiel, fofa, amada e que lembrarei eternamente.

Ao professor **Filipe Ivan Daniel**, meu orientador, por ser um excelente profissional. Pelo conhecimento compartilhado, ajuda e paciência, que me proporcionaram concluir este trabalho.

À professor **Claudia Regina dos Santos**, minha co-orientadora por ser tão querida, atenciosa e me ajudarneste trabalho, sem sua ajuda certamente não conseguiria.

A minha dupla **Georgia Voltolini Feller**, parceira e amiga desde antes da faculdade. Presente nos melhores e piores momentos dessa trajetória.

Aos **profissionais do Ambulatório de Odontologia do HU**, por serem pessoas incríveis, humanas e com um coração enorme. Obrigada pelo convívio e pela ajuda.

Aos meus **colegas de turma**, pela convivência diária, pelo companheirismo, pelas risadas, pelos momentos alegres que vivemos. Foi um prazer conhecer e crescer com vocês.

Aos meus **amigos e familiares**, por todos os momentos vividos. Pelo apoio, palavras de conforto e por entender a minha ausência durante esses últimos meses.

“A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original”

(Albert Einstein)

RESUMO

O níquel é um dos compostos nocivos encontrados no tabaco, visto que ele se acumula na planta *Nicotina tabacum*. Ele é um metal pesado amplamente encontrado na natureza e é considerado carcinógeno para os seres humanos. A exposição crônica a ele causa danos ao organismo. O objetivo deste estudo foi avaliar a concentração salivar e sanguínea de níquel em indivíduos fumantes e não fumantes. Para o estudo foram selecionados 23 pacientes atendidos no Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da UFSC (HU-UFSC), sendo estes divididos em dois grupos: o grupo caso (13 pacientes fumantes) e o grupo controle (10 pacientes não fumantes). A coleta da saliva e do sangue periférico ocorreu no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC e as análises dos mesmos foram realizadas no Laboratório de Pesquisas Toxicológicas da UFSC, por meio de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. Os resultados demonstraram que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de níquel ($\mu\text{g/L}$) das amostras de saliva entre o grupo fumante ($4,23 \pm 1,66$) e não fumante ($8,28 \pm 6,64$) e também das amostras de sangue entre o grupo fumante ($2,22 \pm 1,69$) e não fumante ($1,02 \pm 0,39$). Mas não houve correlação entre as concentrações salivares e sanguíneas das amostras do grupo fumante com o número de cigarros fumados no dia da coleta, no dia anterior, com a quantidade de cigarros que o indivíduo fumava e com o tempo de tabagismo. Logo concluímos que a concentração salivar de níquel do grupo não fumante foi maior do que a do grupo fumante, enquanto que a concentração sanguínea média de níquel foi maior para o grupo fumante e que não houve relação entre as concentrações encontradas na saliva e no sangue periférico com o hábito do tabagismo.

Palavras chave: Níquel, tabaco, tabagismo, sangue, saliva, espectrometria de absorção atômica

ABSTRACT

Nickel is one of harmful compounds found in tobacco, whereas it accumulates in the plant *Nicotina tabacum*. It is a heavy metal widely found in nature and is considered a carcinogen for humans. Chronic exposure to it causes damage to the body. The aim of this study was to evaluate the blood and salivary concentration of nickel in smokers and non-smokers. Twenty-three patients were selected from the Stomatology Clinic of University Hospital of Federal University of Santa Catarina (UH-FUSC), and divided into two groups: the case group (13 smokers patients) and control group (10 non-smokers patients). The collection of saliva and peripheral blood occurred in the Laboratory of Clinical Analysis of UH-FUSC and analyzes were performed at the University Toxicological Research Laboratory, by atomic absorption spectrometry with graphite furnace. The results demonstrated a statistically significant difference ($p < 0.05$) at concentrations of nickel ($\mu\text{g/L}$) of the saliva samples between the smoking group (4.23 ± 1.66) and non-smokers (8.28 ± 6.64) and also for blood samples from smoking group (2.22 ± 1.69) and non-smokers (1.02 ± 0.39). There was no correlation between salivary and blood concentrations of samples from smoking group with the number of cigarettes smoked on the day of collection, the previous day, with the amount of cigarettes/day, and the duration of smoking. Therefore we conclude that the mean salivary concentration of nickel in the non-smoker group was higher than the smoker group, while mean blood nickel concentration was higher in the smoker group and that there was no relationship between the concentrations found in saliva and peripheral blood with the habit of smoking.

Keywords: Nickel, tobacco, smoking, blood, saliva, spectrometry of atomic absorption

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva de calibração com diferentes concentrações de níquel (5, 10, 15 e 20µg/L) para as amostras de saliva.....	34
Gráfico 2 - Curva de calibração com diferentes concentrações de níquel (5, 10, 15 e 20µg/L) para as amostras de sangue.....	34
Gráfico 3 - Procedência dos participantes da pesquisa de ambos os grupos.....	38
Gráfico 4 - Média das concentrações salivares e sanguíneas de níquel em µg/L do grupo fumante e não fumante.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de concentrações de níquel em alguns alimentos.....	21
Tabela 2 - Programação das temperaturas para análise de níquel por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	35
Tabela 3 - Dados de validação para a saliva e para o sangue.....	36
Tabela 4 - Perfil dos pacientes dos grupos fumante e não fumante.....	37
Tabela 5 - Dados sobre etilismo, doenças sistêmicas e medicamentos em uso.....	38
Tabela 6 - Período da coleta das amostras em valor absoluto e percentual para o grupo fumante e não fumante.....	39
Tabela 7 - Concentrações salivares e sanguíneas de níquel em µg/L nas amostras do grupo de pacientes fumantes.....	39
Tabela 8 - Concentrações salivares e sanguíneas de níquel em µg/L nas amostras do grupo de pacientes não fumantes.....	40
Tabela 9 - Valores obtidos de concentrações de níquel em µg/L nas amostras de saliva e sangue dos grupos de pacientes fumantes e não fumantes.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAFG: Absorção Atômica com Forno de Grafite

HU: Hospital Universitário

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

OMS: Organização Mundial da Saúde

IARC: *International Agency Research of Cancer*

DNA: ácido desoxirribonucleico

EUA: Estados Unidos da América

NIOSH: *National Institute of Occupational Safety and Health*

MME: Ministério de Minas e Energia

ICP-MS: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy*

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

LD: Limite de Detecção

LQ: Limite de Quantificação

Ni: Níquel

Cr: Cromo

LISTA DE UNIDADES

µg: micrograma

L: litro

g: grama

µm: micrômetro

mL: mililitro

m³: metro cúbico

ppm: partes por milhão

rpm: rotações por minuto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 O tabaco.....	16
2.2 Metais pesados.....	17
2.3 Sobre o níquel.....	18
2.4 Níquel na natureza.....	19
2.5 Exposição humana ao níquel.....	20
2.5.1 Alimentos e água.....	20
2.5.2 Fumo.....	21
2.5.3 Outras fontes.....	22
2.5.4 Exposição ocupacional ao níquel.....	22
2.6 Absorção de níquel no organismo.....	24
2.6.1 Via trato respiratório (inalação).....	24
2.6.2 Via trato digestivo (digestão).....	25
2.6.3 Via pele (contato dérmico).....	25
2.7 Distribuição e metabolismo de níquel no organismo.....	26
2.8 Excreção de níquel no organismo.....	26
2.9 Sobre a saliva.....	28
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4. METODOLOGIA.....	31
4.1 Delineamento.....	31
4.2 Aspectos éticos.....	31
4.3 Amostras.....	31
4.4 Cadastro e coleta de informações.....	31
4.5 Coleta e armazenamento de material.....	32
4.5.1 Coleta e armazenamento de saliva.....	32
4.5.2 Coleta e armazenamento de sangue periférico.....	32

4.6 Preparo e análise das amostras.....	33
4.6.1 Preparo das amostras de saliva.....	33
4.6.2 Preparo das amostras de sangue periférico.....	33
4.6.3 Determinação da concentração de níquel das amostras.....	33
4.7 Otimização e validação do método.....	35
4.8 Análise estatística dos resultados.....	36
5. RESULTADOS.....	37
6. DISCUSSÃO.....	43
7. CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
APÊNDICES.....	56
APÊNDICE A – TCLE.....	57
APÊNDICE B – Cadastro do paciente.....	59
ANEXOS.....	61
ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP.....	62

1 INTRODUÇÃO

A planta do tabaco é capaz de absorver e acumular, do solo para as suas folhas, uma variedade de metais pesados.^{1; 2; 3} Parte destes metais é transferida ao corpo humano através do fumo.¹ Esses metais podem se acumular no organismo e causar danos à saúde humana, principalmente alguns órgãos como rins e fígado, agindo como promotores em conjunto com os agentes cancerígenos.^{1; 4} Alguns estudos mostram que a quantidade de determinados metais pesados encontrada na gordura, no sangue e no fígado de pacientes fumantes de tabaco é muito mais alta do que de pacientes não fumantes.^{4; 5; 6; 7}

O níquel é um destes metais pesados, sendo uma substância altamente tóxica e cancerígena.⁸ Ele está presente em diversas formas na natureza, como no ar, água e solo.⁹ A principal forma de exposição dos seres humanos ao níquel ocorre através da ingestão de água e alimentos contaminados e pela inalação da fumaça do cigarro e de pó contendo este metal.^{10; 11; 12; 13} O níquel está presente nas plantas do tabaco devido à sua absorção através do solo, de fertilizantes ou de produtos pesticidas.¹⁴ É possível verificar que no tabaco e nos cigarros a concentração de níquel é alta, independente do seu tipo e origem.¹¹

O acúmulo de níquel no organismo devido à exposição crônica pode ocasionar diversos problemas à saúde humana¹⁰, como dermatite de contato, fibrose pulmonar, doenças renais e, mais gravemente, neoplasias malignas.¹⁰ O níquel é facilmente eliminado pelo organismo humano.¹⁵ A eliminação deste metal pode ser feita de várias maneiras, como, por exemplo, através das fezes e dos cabelos; mas a excreção urinária é considerada a principal via.³ Além disso, o níquel também pode ser eliminado através da saliva e do suor.¹⁶

Como a saliva é um importante meio de secreção e de fácil manipulação, principalmente para cirurgiões-dentistas, pretende-se, com este trabalho, verificar se existe diferença entre a concentração de níquel em saliva de pacientes fumantes e não fumantes. O sangue é uma secreção amplamente utilizada em diversos estudos, servindo como parâmetro de comparação de resultados.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi realizar uma análise das concentrações de níquel na saliva e no sangue de indivíduos fumantes e não fumantes através da técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (AAFG) e, em indivíduos fumantes, correlacionar a concentração de níquel encontrada com o hábito do tabagismo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O tabaco

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo global de cigarros aumentou ao longo dos anos. Em 1970 havia cerca de 3.261.565 fumantes e em 2000 esse número passou para 5.710.889.¹⁷ De acordo com a OMS (2008) o tabaco mata uma pessoa a cada 6 segundos; durante o século 20 a epidemia do tabaco matou 100 milhões de pessoas e se nenhuma medida urgente for tomada, poderá matar cerca de 1 bilhão de pessoas no século XXI.¹⁸

No Brasil, a forma mais comum do uso do tabaco é através do fumo convencional.¹⁹ Porém o hábito do tabagismo causa impacto na saúde não somente dos fumantes ativos, ou seja, aqueles que fazem uso do próprio cigarro, mas também atinge os chamados fumantes passivos, que por sua vez, não utilizam o tabaco propriamente dito, mas ficam expostos a sua fumaça.²⁰ Em ambos os tipos de fumantes, as substâncias presentes na fumaça atingem o trato respiratório, causando eventos como asma, rinite²¹ e câncer de pulmão.²² Além disso, podem causar doenças cardiovasculares, sendo um dos principais fatores de risco para esta patologia.²³

O tabaco é o principal fator etiológico para o câncer de boca,^{19; 24} mas ele também causa outros tipos de cânceres.^{25; 26; 27} O tabagismo é considerado o principal fator de risco estabelecido tanto para o câncer de pulmão quanto para o de bexiga.^{25; 26; 27} No caso do câncer de bexiga, o risco para homens que fumam é 50-65% maior e para mulheres é 20-30%.^{26; 27}

Durante a produção do tabaco, além dos danos que ele causa à saúde dos seres humanos (como os diferentes tipos de cânceres, doenças cardiovasculares, osteoporose, doenças respiratórias, impotência sexual nos homens, infertilidade nas mulheres) existem outros aspectos que afetam toda a sociedade e o ambiente, como, por exemplo, o uso de agrotóxicos, o adoecimento dos fumicultores, desmatamentos, incêndios, dentre outros. No caso do desmatamento, para cada 300 cigarros produzidos, uma árvore é “sacrificada”. Sendo assim, uma pessoa que fuma um maço de cigarros ao dia, em um mês estará desmatando duas árvores e mesmo que estas áreas sejam reflorestadas, a fauna e a flora não serão refeitas nas condições naturais. Os filtros dos cigarros estão repletos de materiais tóxicos, que demoram muito para se decompor, podendo levar mais de cinco anos; isso acarreta problemas nos esgotos, sistema das águas, contaminação dos solos e água; matando peixes, tartarugas e aves marinhas, os quais podem ingerir esses componentes tóxicos.²⁸

A composição dos cigarros e de sua fumaça inclui mais de 7.000 substâncias²⁹ como aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos aromáticos, metais pesados, dentre outros.¹⁷ Estes componentes são os responsáveis, através da sua absorção ativa e passiva no trato respiratório, pelos danos à homeostasia do organismo.¹⁷

2.2 Metais pesados

Conforme a *International Agency Research of Cancer* (IARC), metais pesados como arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb) e níquel (Ni) são classificados como carcinógenos para os seres humanos. Estas substâncias podem se incorporar em alimentos cultivados em solos contaminados, gerando consequências desfavoráveis para o indivíduo que os consumir.³⁰ Quando inalados, depositam-se nos pulmões e provocam danos, principalmente quando a defesa mucociliar dos pulmões já está comprometida pelo tabagismo. Além disso, são metais não biodegradáveis, ou seja, irão permanecer em nossos organismos por muito tempo, gerando alterações nas funções exercidas pelas células, através de diversos mecanismos.²²

Metais como os citados anteriormente encontram-se na composição dos cigarros, sendo que seus níveis variam de acordo com alguns aspectos, como, por exemplo, a região geográfica onde o tabaco é cultivado, a variedade vegetal do tabaco e o tipo de tratamento de fertilização utilizado.²⁰ Existe cerca de 500 espécies de plantas com a capacidade de acumular grandes quantidades de níquel, cádmio e zinco (dentre outros metais).³¹ Porém, para a maioria, o excesso torna-se tóxico. Estudos demonstraram que algumas plantas podem conter e acumular níquel¹² e uma dessas espécies é a planta do tabaco (*Nicotina tabacum*), que absorve o níquel através do solo e concentra-o em suas folhas.²

A planta do tabaco tem uma capacidade natural de acumular grandes quantidades de minerais a partir do solo contaminado²⁰, mas a quantidade de metais pesados depositada no organismo humano durante a inalação depende de fatores como: 1) a quantidade de metal presente no tabaco, 2) os percentuais absorvidos pelos pulmões e 3) a porcentagem de metais transferidos para a fumaça durante a sua queima. No caso do níquel estima-se que 20% seja transferido para a fumaça³² e entre 20% e 35% do níquel inalado que seja retido nos pulmões é absorvido pelo sangue. A absorção, após a exposição oral, também pode ocorrer através da água ou da comida, podendo variar de 3% a 40%. Independente da via de absorção, a maior parte é excretada na urina.¹²

Como os níveis de metais no corpo de fumantes ativos e passivos tendem a aumentar, visto que o hábito de fumar frequentemente persiste por vários anos, o tabagismo pode ser

uma grande fonte de metais pesados, dentre eles o níquel. Ainda não existem estudos sugerindo valores limites para essas substâncias nos cigarros, mas existem níveis considerados aceitáveis para os seres humanos, visto que os metais estão presentes também em outros locais, como na dieta, produtos naturais e são onipresentes no ambiente.²⁰

2.3 Sobre o níquel

Puro, o níquel é um metal branco-rígido, que tem propriedades que o tornam muito desejável na indústria, pois se combina com outros metais (como ferro, cobre, cromo e zinco) para formar misturas denominadas ligas.¹² De acordo com a IARC, todos os compostos de níquel, exceto níquel metálico, foram classificados como cancerígenos para os seres humanos.³³

Os compostos cristalinos/particulados de níquel que são insolúveis entram nas células através do processo de fagocitose.³⁴ A carbonila de níquel entra nas células devido à penetração nas membranas^{11; 35} e os compostos solúveis de níquel são transportados para as células através do processo de difusão ou através de canais de cálcio.¹⁰ O níquel é um elemento estável e persistente no ambiente, visto que não pode ser biologicamente ou quimicamente degradado ou destruído.³⁶

Quando ingerido em grandes quantidades, o níquel torna-se tóxico para os organismos vivos.³⁷ Porém concentrações não tóxicas de níquel podem ser suficientes para induzir efeitos biológicos importantes em células da mucosa oral, como uma diminuição na viabilidade e quebras no DNA.³⁸ Nos queratinócitos humanos, o níquel clorídrico induz a morte celular e a interrupção do ciclo celular.³⁹ Em um estudo, verificou-se que para os queratinócitos humanos cultivados *in vitro* o níquel é tóxico. Também, de acordo com este estudo, tanto as formas solúveis como as formas parcialmente insolúveis de níquel induzem a efeitos citotóxicos equivalentes.⁴⁰

O acúmulo de níquel no organismo devido à exposição crônica pode ocasionar problemas de saúde. Pode haver dermatite de contato, induzir fibrose pulmonar, doenças renais e, mais gravemente, neoplasias malignas.¹⁰

O Comitê Internacional de Carcinogênese por níquel em Humanos (1990) concluiu que cânceres de pulmão e nasal estão relacionados principalmente à exposição a compostos de níquel menos solúveis em concentrações acima de 10 mg/m³ (compostos principalmente óxidos e sulfídricos).⁴¹

Uma meta-análise realizada por OJAJARVI et al. (2000)⁴² encontrou associação significativa entre a exposição ao níquel e o risco de desenvolver câncer de pâncreas, embora

outros autores SEILKOP, OJAJARVI e PARTANEN (2001)⁴³ tenham levantado dúvidas sobre a associação do níquel com o desenvolvimento de cânceres fora do trato respiratório.

2.4 Níquel na natureza

O níquel está presente em diversos lugares na natureza: no ar, água e solo.⁹ Nessas três situações ele e seus compostos podem ser liberados através de fontes naturais e antropogênicas.^{10; 12; 33; 44; 45}

O níquel é encontrado na crosta terrestre em uma concentração de aproximadamente 86 ppm¹² sendo o 24º elemento mais encontrado nela.^{45; 46} A maior parte liberada ao meio ambiente é lançada **no solo**.^{45; 46} As fontes naturais que liberam o níquel **na atmosfera** incluem erupções vulcânicas, vegetação, poeiras levadas pelo vento, água do mar e incêndios florestais, sendo estimada cerca de 8500 toneladas de níquel são emitidas para a atmosfera por ano por estas fontes.³³ Já as fontes naturais que o liberam **na água** incluem dissolução de rochas e solo contendo níquel, processo de intemperismo, solo perturbado e deposição atmosférica.⁴⁵ É através do escoamento relacionado ao desgaste natural do solo e de rochas a partir do solo perturbado ou de precipitações atmosféricas que o níquel entra em contato com as águas subterrâneas.⁴⁶ O níquel é encontrado na forma insolúvel (hidróxidos de níquel) quando o pH for igual ou maior que 6,7 e solúvel em um pH igual ou menor que 6,5.^{45; 46} O níquel geralmente está presente em altas concentrações em resíduos líquidos liberados diretamente ao meio ambiente sem qualquer tratamento prévio.⁴⁷

Como fontes antropogênicas que liberam o níquel **no solo** são incluídas a mineração, fundição, resíduos da fabricação de metais, resíduos comerciais, lixo urbano, cinzas e lodo de esgoto.¹² Estas fontes que liberam níquel **na atmosfera** incluem mineração, refino, fundição, fabricação de aço inoxidável, combustão de óleo residual e combustível, incineração de resíduos, combustão de carvão e utilização industrial,^{12; 33} e estima-se que 43100 toneladas de níquel são emitidas por estas fontes; destas, aproximadamente 62% são em função da queima de óleo residual e combustíveis.³³ Através dos processos de precipitação, o níquel pode ser removido da atmosfera e transferido para o solo e água.¹² Por fim, as que liberam o níquel **na água** incluem processos industriais como mineração e fundição, águas residuais domésticas/industriais e chorume.⁴⁵

Em 2008, o Brasil ocupou a 7ª posição a nível mundial em reserva de níquel. De acordo com o Ministério de Minas e Energia (MME) as reservas de níquel no Brasil estão distribuídas nos estados de São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Pará e Piauí. Porém, 97% destas reservas encontram-se nos estados do Pará e Goiás. No Brasil, as reservas totais são

predominantemente formadas por minérios de laterítico e, em menor extensão, por minério sulfetado. Das reservas totais (reservas medidas, indicadas e inferidas), em 2008, estimou-se que havia cerca de 10,5 milhões de toneladas de níquel e 77% deste total representam as reservas medidas.⁴⁸

2.5 Exposição humana ao níquel

O ser humano é exposto aos metais através da ingestão de água e alimentos contaminados e por inalação de pó contendo metal.⁴⁹ Para a população de um modo geral, a principal fonte de exposição ao níquel é através da alimentação e do consumo de água.^{12; 13}

2.5.1 Alimentos e Água

Diariamente cerca de 170 µg de níquel são ingeridos pelo ser humano por meio da alimentação, através da ingestão de cacau, aveia, nozes, soja, lentilhas, legumes, grãos, marisco e peixes, os quais são ricos neste metal.^{12; 44; 50; 51} A tabela 1 apresenta a quantidade de níquel nos alimentos.

Tabela 1 - Exemplos de concentrações de níquel em alguns alimentos

Substância	Conteúdo de níquel
Cacau	9,8 µg/g
Soja	5,2 µg/g
Nozes	3,6 µg/g
Amendoim	2,8 µg/g
Aveia	2,3 µg/g
Trigo	2,0 µg/g
Chocolate amargo	1,9 µg/g
Leguminosas secas	1,7 µg/g
Amêndoas	1,3 µg/g
Grãos, vegetais e frutas	0,02 – 2,7 µg/g
Carnes	0,06 – 0,4 µg/g
Frutos do mar	0,02 – 20 µg/g
Leite materno	20 – 500 µg/l
Leite de vaca	<100 µg/l
Água potável	20 µg/l

Fonte: Viana (2011)²⁰, EVM (2002)⁴⁴, NTP (2000)⁴⁶ e WHO (1993)⁵²

Através do consumo de água, o ser humano ingere aproximadamente 2 µg de níquel por dia.¹² Em um estudo realizado na Alemanha, verificou-se que a concentração de níquel na água variou de 0,2 a 0,5 µg/L.⁵³

Um estudo de FERRANTE et al. (2013)⁵⁴ na província de Catania, na Itália, avaliou amostras de frutas, legumes, solo, água e ar e determinou que o níquel foi o metal pesado mais frequentemente encontrado.⁵⁴

2.5.2 Fumo

A planta do tabaco é capaz de absorver e acumular, do solo para as suas folhas, uma variedade de metais pesados.^{1; 2; 12} O níquel está presente nas plantas do tabaco devido à sua absorção através do solo, de fertilizantes ou de produtos pesticidas.¹⁴ Parte deste metal é transferida ao corpo humano por meio do fumo.¹ De acordo com RICKERT et al. (1994)⁵ é

possível verificar que no tabaco e nos cigarros a concentração de níquel é alta, independente do seu tipo e origem.

A inalação da fumaça do tabaco é uma expressiva fonte de exposição de níquel para a população não exposta ocupacionalmente.^{11; 13} De acordo com SUNDERMAN et al. (1986)⁵⁵ o teor de níquel no cigarro é de 1 a 3 µg por cigarro e aproximadamente 10 a 20% deste metal é liberado na corrente primária da fumaça.

As concentrações de níquel nos cigarros vendidos comercialmente podem variar, tendo sido encontrados valores de 0,811 a 22,41 µg/g de tabaco (peso seco).^{20; 36; 56}

2.5.3 Outras fontes

Pessoas que não fumam tabaco são expostas, através da respiração, a 0,1 a 1 µg de níquel por dia.¹²

O ser humano também se expõe ao níquel ao tocar em objetos contendo este metal, como por exemplo: moedas, joias e aço inoxidável.^{12; 44; 57} O níquel é um agente sensibilizante comum e de alta prevalência de dermatite alérgica de contato.^{13; 58; 59}

2.5.4 Exposição ocupacional

Os indivíduos mais sujeitos a absorver o níquel são aqueles que se expõem ocupacionalmente a ele.¹² Sabe-se que o níquel e seus compostos são amplamente utilizados na indústria devido às suas características físicas e químicas únicas.¹⁰ A exposição ocupacional ao níquel através da inalação, ingestão ou contato com a pele⁴⁶ ocorre tanto em indústrias produtoras de níquel (mineração, trituração, fundição e refino), quanto em indústrias e operações que utilizam o níquel para fabricação de ligas e aço inoxidável; galvanoplastia, soldagem, moagem e corte.^{45; 60} Constatou-se que há maior exposição ao níquel metálico em indústrias que *utilizam* o níquel do que naquelas que são *produtoras*,¹² além de que as operações que envolvem moagem, soldagem e manipulação de pó de níquel são as que produzem os mais altos níveis deste no ar.¹²

De acordo com o *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH), no período de 1981-1983, verificou-se que 727.240 trabalhadores foram potencialmente expostos ao níquel nos EUA.⁶¹

Algumas doenças como rinite, sinusite, enfisema, asma e bronquite crônica foram relatadas em indivíduos expostos ocupacionalmente ao níquel ou seus compostos.^{12; 62} EDELMAN et al. (1989)⁶³ mostraram em seu estudo que estes indivíduos apresentavam uma

concentração deste metal nos pulmões consideravelmente mais elevada que indivíduos sem exposição relacionada ao seu trabalho.

ANDERSEN et al. (1989)⁶⁴ observaram que o conteúdo de níquel por peso seco de pulmões na autópsia de trabalhadores expostos ao níquel chegou até 380 µg/g, enquanto indivíduos não expostos obtiveram valores entre 0,39 a 0,76 µg/g.

O Comitê Internacional de Carcinogênese por Níquel em Humanos (1990) concluiu que cânceres do trato respiratório (pulmão e nasal) estão relacionados principalmente à exposição a compostos de níquel menos solúveis em concentrações acima de 10 mg/m³ e a exposição a compostos solúveis em concentrações acima de 1 mg/m³.⁴¹

No Brasil, amostras de urina de 10 trabalhadores de uma fábrica de zinco (não expostos ao níquel) e de 10 trabalhadores de uma fábrica de galvanização que utiliza sulfato de níquel foram analisadas.⁶⁵ Verificou-se que a média e o desvio padrão da concentração de níquel na urina dos trabalhadores da fábrica de zinco era de $4,9 \pm 2,2$ µg/L e que a dos trabalhadores da fábrica de galvanização antes do expediente era de $10,5 \pm 7,5$ µg/L e depois do expediente $20,6 \pm 18,1$ µg/L.⁶⁵ A concentração de níquel dos trabalhadores expostos ocupacionalmente antes do expediente foi maior do que a dos trabalhadores não expostos, provavelmente devido a algum grau de acumulação na exposição diária.⁶⁵

Os resultados do estudo de TORJUSSEN et al. (1979)⁶⁶ indicam que os compostos menos solúveis de níquel são depositados na mucosa nasal após a exposição ocupacional por inalação. Como resultado deste estudo, obteve-se que os níveis de níquel na mucosa nasal são mais elevados em trabalhadores expostos a compostos menos solúveis de níquel em relação aos compostos solúveis de níquel.

Em outro estudo, os níveis sanguíneos e urinários de níquel de trabalhadores ao ar livre foram significativamente correlacionados com os níveis de níquel das amostras de ar individual medidas na região de trabalho.⁶⁷

Já em outro estudo sobre trabalhadores da maior indústria produtora de níquel da China, obteve-se como resultado que a prevalência de rinite alérgica foi de 11% entre os 23.484 trabalhadores e que a mortalidade por câncer de pulmão representa 33,4% (n=309) das 925 mortes relacionadas a cânceres.⁶⁸

Há relatos de aumentos significativos no risco de câncer de pulmão entre os trabalhadores da produção de liga de alto teor de níquel, em comparação com a população geral dos EUA. Porém, quando usada a população local como grupo de comparação, o aumento no risco de câncer do pulmão não tem sido estatisticamente significativo. Por

consequente, a população local também está exposta a esse aumento no risco, assim como os trabalhadores.⁶⁹

2.6 Absorção de níquel no organismo

A quantidade de níquel absorvido depende da quantidade inalada, ingerida ou em contato dérmico^{70,71} e também das características físicas e químicas dos compostos.⁷⁰ A solubilidade do níquel é um fator importante para todas as vias de absorção. Geralmente sua absorção é maior para a carbonila de níquel, depois para compostos solúveis de níquel e, por fim, para níquel metálico e seus compostos insolúveis.

2.6.1 Via trato respiratório (inalação)

Durante o fumo do tabaco, o níquel pode se apresentar na forma de partículas (como níquel metálico) ou na forma gasosa (como a carbonila de níquel, um composto volátil).^{11; 72; 73}

Partículas de níquel inaladas são depositadas no trato respiratório superior ou inferior, dependendo do tamanho da partícula:⁷⁴ partículas grandes de níquel irão se depositar na área nasofaríngea, enquanto as partículas menores principalmente na traqueia e região bronquiolar do pulmão.¹²

Fatores como a solubilidade e o diâmetro aerodinâmico da partícula influenciam na absorção por inalação desta no trato respiratório.⁷² Os seres humanos inalam, aproximadamente, metade das partículas com diâmetros aerodinâmicos menores que 30 µm e acredita-se que esta eficiência em inalar possa diminuir muito para as partículas com diâmetros entre 100 e 200 µm, sendo estas menos absorvidas. Apenas uma pequena porção de partículas com diâmetros aerodinâmicos maior que 10 µm são depositadas nas regiões inferiores do pulmão e apenas partículas menores ou iguais a 4 µm são depositadas na região alveolar.⁷⁵

No trato respiratório os compostos solúveis de níquel são absorvidos na forma de íons, enquanto que os compostos pouco solúveis são fagocitados.⁷¹

As partículas metálicas de níquel retidas no pulmão apresentam uma absorção de aproximadamente 6%, enquanto os compostos solúveis de níquel (sulfato de níquel, cloreto de níquel, nitrato de níquel) apresentam uma absorção de aproximadamente 100% quando o diâmetro aerodinâmico das partículas for inferior a 5 µm (chamadas de partículas inaláveis). Quando estas partículas apresentam diâmetro maior que 5 µm (chamadas de partículas não

inaláveis), a absorção é considerada insignificante e, portanto, são eliminadas através da ação mucociliar, removidas para dentro do trato gastrointestinal, onde são absorvidas.⁷²

A importante toxicologia do níquel deve-se, principalmente, à carbonila de níquel, que é um composto encontrado na fumaça do cigarro que passa rapidamente pela barreira alveolar após a inalação da fumaça.^{11; 33; 35} É através da sua propriedade de solubilidade em gordura que a carbonila de níquel consegue uma boa penetração nas membranas, visto que estas apresentam fosfolipídeos em sua composição.^{11; 35}

2.6.2 Via trato digestivo (ingestão)

Em pacientes que utilizam aparelhos ortodônticos, a maior parte dos produtos de corrosão é movida para o trato gastrointestinal durante a deglutição, inclusive o níquel.⁷⁶

No trato digestivo, o níquel apresenta uma baixa absorção a partir dos alimentos, mas a absorção através da água é mais elevada.¹² A taxa de absorção de níquel no trato gastrointestinal depende de alguns fatores como: forma química do elemento, composição da dieta, presença de agentes quelantes e pH.^{71; 77}

Compostos insolúveis de níquel apresentam baixa absorção após a sua ingestão, porém esta se dá de forma rápida entre uma e duas horas.⁷¹ Já os compostos solúveis de níquel apresentam uma absorção maior e mais rápida quando comparados aos compostos de níquel pouco solúveis. O níquel que é ingerido e não absorvido é eliminado pelas fezes.¹²

2.6.3 Via pele (contato dérmico)

A absorção de níquel através da pele é menor quando comparada com a absorção por inalação e ingestão. Porém esta é importante devido à dermatite de contato causada por hipersensibilidade ao níquel.⁷¹

O níquel tende a continuar nos pulmões e na mucosa nasal e pode ficar retido por muitos anos. Em estudos experimentais em animais, foram relatados efeitos adversos nos rins e sistema respiratório; em humanos, o níquel provoca dermatites de contato.³³

Níquel e seus sais solúveis em água são potentes sensibilizadores cutâneos. Após a exposição por sensibilização dérmica, até mesmo pequenas quantidades destes podem causar surtos de dermatite.⁶²

O níquel metálico e os sais de níquel podem ser solubilizados pelo suor durante um prolongado contato com a pele, levando a formação de íons de níquel e, posteriormente, a absorção dérmica destes através da penetração na pele.⁷⁸ Este processo é determinado pela taxa de difusão do níquel através da camada córnea da epiderme.⁷⁸ A absorção desses íons

pela pele em indivíduos sensibilizados leva à dermatite de contato, mostrando inflamação na pele.⁷⁸

Um estudo mostrou que a sensibilização por contato do níquel está significativamente relacionada com o fumo de tabaco; portanto, quem fuma tem mais chances de desenvolver dermatite de contato pelo níquel.¹⁴ Esta sensibilização não teve relação com o sexo do paciente, mas era dose-dependente.¹⁴

A exposição ao níquel na pele aumentou muito devido à utilização deste em objetos do uso cotidiano e profissional, como bijuterias, relógios, botões e zíperes. Estes objetos são a principal causa de indução da alergia de contato em indivíduos previamente não alérgicos ao níquel.⁵⁷ Dermatites de contato induzidas ocupacionalmente ocorrem em trabalhadores de indústrias de refino e galvanoplastia.⁷⁹

2.7 Distribuição e metabolismo de níquel no organismo

Depois de o níquel ser absorvido pelo corpo humano, ele entra no sangue, liga-se a proteínas transportadoras e atinge todos os órgãos e tecidos por meio da corrente sanguínea.¹¹

O níquel é transportado no sangue principalmente pela albumina e em menor grau pela histidina.⁵⁵ Apesar de a distribuição ser afetada pela via de administração, forma química e tempo após a exposição do níquel, este metal é facilmente distribuído por todo o organismo.⁸⁰ Entretanto, ele não é destruído pelo nosso corpo, mas sua forma química pode ser alterada. No soro humano, ele liga-se à histadina, albumina, níquel-plasmina e $\alpha 2$ -macroglobulina.⁷¹

2.8 Excreção de níquel no organismo

A eliminação do níquel no organismo humano pode ser feita de várias maneiras, como através dos cabelos, do suor, das fezes e da urina, sendo esta considerada a principal forma^{12; 71; 81}, pois há um aumento na concentração de níquel na urina de indivíduos expostos ao níquel.^{8; 33} Através do suor, a excreção aumenta em regiões que apresentam altas temperaturas. Além disso, também pode ser eliminado pela saliva.¹⁶ Sabe-se que o cabelo reflete exposição passada a metais pesados, enquanto o sangue e a urina refletem exposição recente aos mesmos.⁸²

De acordo com um estudo de STOJANOVIĆ et al. (2004)¹¹, a concentração de níquel no sangue aumentou em pacientes fumantes, mas outros fatores (grau de eliminação e concentração de níquel nos órgãos) também influenciaram estes níveis de níquel no sangue. Neste mesmo estudo, um significativo aumento do teor de níquel na urina de pacientes fumantes em comparação aos não fumantes foi observado.

De acordo com LINDEN et al. (1985)⁸³ 12 pacientes com artroplastia de quadril, contendo de 14 a 16% de níquel na prótese, apresentaram concentrações médias de 0,3µg/L no soro e 0,36 µg/L no sangue. Já nos 30 casos controles a concentração média foi de 0,28 µg/L no soro e 0,34 µg/L no sangue. Portanto, não houve diferença significativa na concentração de níquel entre os pacientes com a prótese e os pacientes saudáveis.

Um estudo conduzido por SUNDERMAN et al. (1986)⁸⁴ mostrou que a média das concentrações de níquel em amostras de urina de pessoas saudáveis foi de 2,0 µg/L, enquanto que em trabalhadores de galvanoplastia a média foi de 27 µg/L e nos trabalhadores de bateria de níquel foi de 32 µg/L. Com isso, os autores concluíram que elevadas concentrações de níquel na urina são observadas em indivíduos expostos ocupacionalmente a este metal.

Numa pesquisa realizada por TORJUSSEN et al. (1979)⁶⁶ foram avaliadas amostras de urina, plasma e biópsia de mucosa nasal de 318 trabalhadores ativos, 15 trabalhadores aposentados expostos ocupacionalmente ao níquel e 57 controles. Como resultado, observaram que trabalhadores expostos ao níquel, tanto ativos quanto aposentados, apresentaram uma concentração significativamente maior de níquel nos três tipos de amostra, e estas foram correlacionadas com o tempo de exposição ao metal. Além disto, após o término da exposição, o níquel foi mantido por anos acumulado na mucosa nasal, com um tempo de meia-vida de aproximadamente 3,5 anos.

Em uma análise com indivíduos saudáveis, a concentração média de níquel no sangue de 17 pessoas foi de 4,8 µg/L, já no soro de 40 indivíduos, esta concentração foi de 2,6 µg/L, e na urina de 26 pessoas foi de 2,3µg/L.⁸⁵

Em outro estudo, a concentração de níquel na urina de 164 mulheres foi determinada, sendo que destas, 44 (aproximadamente 27%) eram fumantes. Encontraram-se, em 95% dos casos, valores de 3,77 µg/L (mulheres com idade entre 18 e 30 anos) a 3,98 µg/L (mulheres com idade entre 31 e 46 anos) de níquel.⁸⁶

Em um estudo, avaliou-se a concentração de níquel na urina de 21 pacientes (12 do sexo feminino e 9 do sexo masculino), antes e após 2 meses da colocação do aparelho ortodôntico fixo com níquel em sua composição. Como resultado, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa entre os dois períodos avaliados, com aumento do valor de níquel na urina de 90% dos pacientes na coleta 2 meses após a colocação do aparelho.⁸⁷

Outros autores observaram a presença de níquel na saliva de pacientes.^{88; 89} Um estudo demonstrou que, após a instalação de aparelhos ortodônticos, houve um aumento nas concentrações salivares e na placa dental deste metal. A concentração média de níquel na

saliva filtrada de pacientes do grupo controle foi de 0,04 µg/g, enquanto a de pacientes com aparelho ortodôntico (do grupo caso) foi de 0,05 µg/g. Já nos sedimentos de saliva, a concentração era de 14,85 µg/g para o grupo controle e 25,25 µg/g para o grupo caso.⁹⁰

Em outro estudo,⁸⁹ foram realizadas coletas de sangue e saliva antes e no final da primeira semana, do primeiro mês, do primeiro ano e ao final do segundo ano da instalação do aparelho ortodôntico. Os valores de níquel na saliva aumentaram significativamente no primeiro mês quando comparados à primeira semana e antes da instalação do aparelho. As concentrações salivares no final da primeira semana e do segundo ano foram maiores quando comparadas ao grupo de antes da instalação. Como conclusão, obteve-se que quantidades mensuráveis de níquel foram encontradas no sangue e saliva dos pacientes que utilizavam aparelhos fixos, mas que estes valores podem mudar em diferentes períodos do tratamento.

De acordo com CATALANATTO et al. (1977)⁹¹ a concentração média de níquel na saliva de 38 adultos saudáveis foi de 1,9 µg/L e não houve diferença significativa entre as concentrações médias das amostras de saliva de paciente fumantes e não fumantes.

2.9 Sobre a saliva

Nos seres humanos, a saliva é produzida por glândulas salivares, incluindo as parótidas, submandibulares e sublinguais.⁹² A secreção diária de saliva varia entre 800 mL a 1500 mL.^{92; 93} Ela é composta basicamente por água (98%), mas há também eletrólitos, peptídeos, muco, hormônios, componentes antibacterianos, enzimas^{92;94}, compostos orgânicos, como albumina, ureia, creatinina, e compostos inorgânicos, como íons Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻ e HCO₃⁻.⁹⁴ A maioria das substâncias apresenta baixa concentração na saliva quando comparadas ao sangue.⁹⁵

De um modo geral, a saliva reflete os fluidos extracelulares típicos,⁹⁷ porém, os mecanismos de transporte ativo e de secreção no processo de produção salivar tornam distinta a composição iônica salivar.⁹⁷ A saliva, por exemplo, contém quantidades menores de íons sódio e cloreto, e quantidades maiores de íons potássio e bicarbonato que o plasma.⁹⁷ Portanto, a saliva não é uma cópia do soro, sendo vantajosa a sua utilização como um substrato adicional para diagnóstico clínico.⁹⁷

A respeito dos fatores que podem influenciar o fluxo salivar, o ciclo circadiano é um dos mais importantes, sendo máximo durante períodos de estimulação (mastigação, gustação, olfato) e reduzindo durante o sono, até atingir um fluxo mínimo.⁹⁶

As concentrações de drogas na saliva estão relacionadas com as suas concentrações livres no plasma e com os efeitos farmacológicos da mesma. Porém, drogas ingeridas por via

oral e substâncias presentes no fumo podem se apresentar em concentrações elevadas na saliva logo após o seu uso. Isto ocorre porque resíduos da droga podem permanecer na cavidade bucal e, nestes casos, a concentração encontrada na saliva pode não necessariamente refletir a concentração sanguínea da mesma.⁹³

Os resultados da estimativa de níquel na saliva têm associação direta com a quantidade de níquel lixiviado, visto que a saliva é o primeiro reservatório de diluição deste metal.⁷⁶

A saliva é um bom material para ser analisado, pois ela é suficientemente estável e sua coleta, transporte e armazenamento podem ser facilmente padronizados.⁹⁸ Embora a saliva seja uma alternativa para determinação de metais pesados, assim como a análise de sangue e urina, ela ainda não é uma amostra aceita como ferramenta para monitorização.⁸²

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a concentração salivar e sanguínea de níquel em indivíduos fumantes e não fumantes.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar a concentração de níquel em saliva e sangue periférico por meio da técnica de espectrometria de absorção atômica;
- Comparar e relacionar os níveis encontrados na saliva e no sangue periférico com o hábito do tabagismo.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento

Trata-se de um estudo descritivo observacional, tipo caso-controle.

4.2 Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, sendo aprovado sob o número 467.387 (Anexo A).

Todos os pacientes foram informados, pelos pesquisadores, quanto à realização desse estudo e seus objetivos. Após ler e compreender os procedimentos do estudo, os que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

4.3 Amostras

As amostras de saliva e sangue foram coletadas de 23 pacientes atendidos no Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da UFSC (HU-UFSC), durante o período de novembro de 2013 a julho de 2014, agrupados da seguinte forma:

- Grupo caso (grupo fumante): 13 pacientes fumantes ativos (uso regular de pelo menos 1 cigarro/dia);
- Grupo controle (grupo não fumante): 10 pacientes não fumantes, que nunca haviam fumado

Foram excluídos da amostra os pacientes com evidência de exposição a metais pesados provenientes de outras fontes e pacientes ex-fumantes.

4.4 Cadastro e coleta de informações

Os pacientes foram abordados, entrevistados e examinados no Ambulatório de Estomatologia do HU-UFSC. Após esclarecimentos básicos sobre a pesquisa a ser desenvolvida, os voluntários que concordaram com a sua participação assinaram o TCLE, foram submetidos a um cadastro (Apêndice B) e também à coleta de material.

Este cadastro incluiu informações como dados pessoais, diagnóstico clínico e histopatológico, tratamentos já realizados, história médica pregressa, medicamentos em uso, doenças prévias, hábitos de tabagismo e etilismo, ocupações atual e anteriores. Nos hábitos de tabagismo foram detalhados os números de cigarros consumidos por dia, no dia anterior à

coleta e no dia da coleta, o tipo/marca, o intervalo entre o último cigarro fumado e a coleta de saliva e há quanto tempo o paciente fumava. Todos os dados fornecidos durante a entrevista foram estritamente confidenciais e utilizados apenas para o desenvolvimento da pesquisa e publicação dos resultados.

4.5 Coleta e armazenamento de material

4.5.1 Coleta e armazenamento de saliva

A saliva total foi coletada baseada no protocolo utilizado por Kosekietet al. (2004)⁹⁹ e na metodologia de Navazesh (1993 e 2008)^{100; 101} e foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC, antes da coleta do sangue.

As seguintes orientações foram dadas aos pacientes previamente à coleta:

- Não ingerir ou colocar na boca qualquer substância durante o período de 1 hora antes da coleta. Atividades como escovar os dentes, alimentar-se, fumar, ingerir líquidos foram suspensas durante este tempo;
- Não aplicar nos lábios fármacos ou produtos cosméticos (batom, protetor solar, cremes, manteiga de cacau, etc.);
- Enxaguar a boca com água destilada antes da coleta;
- Durante a coleta, manter-se sentado e com os olhos abertos;
- Não tocar diretamente no interior do recipiente de coleta;
- Conforme for ocorrendo o acúmulo de saliva na boca, depositá-la no frasco de coleta.

Para a coleta, o paciente depositou toda a saliva no recipiente, previamente esterilizado, até alcançar o valor mínimo de 1 mL. Após isto, a saliva foi armazenada em um recipiente contendo gelo e transportada ao Laboratório de Pesquisas Toxicológicas da UFSC, onde foi armazenada a -20°C até análise.

4.5.2 Coleta e armazenamento de sangue periférico

A coleta foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC por um profissional habilitado do próprio laboratório. Quatro mililitros de sangue periférico foi reservado em tubo contendo EDTA e mantido em recipiente com gelo até ser transportado ao Laboratório de Pesquisas Toxicológicas da UFSC, onde foi armazenado a 4°C até a análise.

4.6 Preparo e análise das amostras

4.6.1 Preparo das amostras de saliva

As amostras de saliva foram descongeladas a temperatura ambiente, identificadas e transferidas para tubos do tipo Falcon para serem, sequencialmente, centrifugadas a 1.500 rpm por 5 minutos a 25°C. A centrífuga utilizada foi da marca Jouan, modelo BR4i (França). Logo, utilizando micropipetas, o sobrenadante foi transferido para microtubos do tipo Eppendorf. Em seguida, 500 µL de sobrenadante foram adicionados em *vials* e diluídos na proporção 1:2 na solução diluente composta por ácido nítrico 0,2% e Triton X-100 0,1%.

4.6.2 Preparo das amostras de sangue periférico

As amostras de sangue foram retiradas da geladeira e, após atingirem a temperatura ambiente, homogeneizadas. Em seguida, 500 µL de sangue foram adicionados em *vials* e diluídos na proporção 1:4 na mesma solução diluente utilizado para o preparo das amostras de saliva.

4.6.3 Determinação da concentração de níquel das amostras

As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Pesquisas Toxicológicas da UFSC, por meio de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. O espectrômetro utilizado foi da marca Thermo Scientific, modelo Ice 3000 (Reino Unido). Os procedimentos foram baseados segundo o protocolo determinado por Olmedo et al. (2010).⁸² Curvas de calibração foram realizadas com diferentes concentrações de níquel (5, 10, 15 e 20µg/L) para saliva e sangue, demonstradas nos Gráficos 1 e 2, respectivamente. Para o preparo dos pontos de calibração, os mesmos foram diluídos com uma solução diluente (ácido nítrico 0,2% e Triton X-100 0,1%). Dihidrogenofosfato de amônio foi utilizado como modificador de matriz.

Gráfico 1 - Curva de Calibração com diferentes concentrações de níquel (5, 10, 15 e 20µg/L) para as amostras de saliva

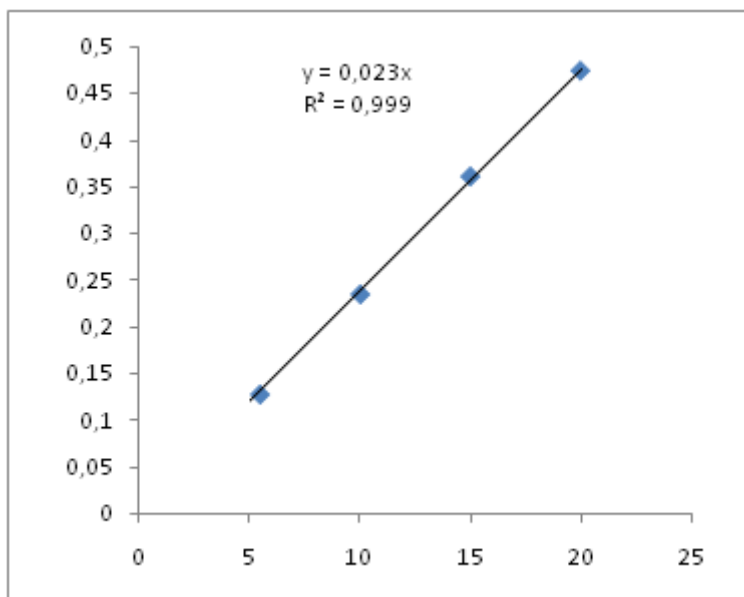
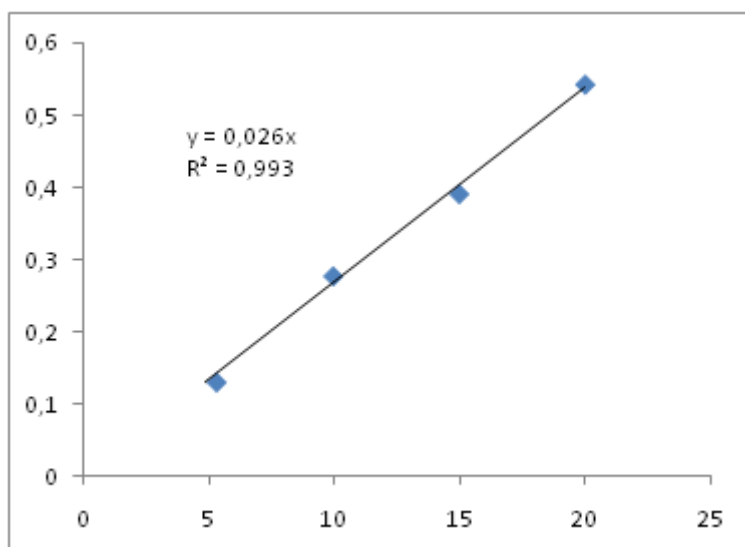


Gráfico 2 - Curva de Calibração com diferentes concentrações de níquel (5, 10, 15 e 20µg/L) para as amostras de sangue



Nos Gráficos 1 e 2, o eixo Y indica a leitura da absorbância, enquanto o eixo X a concentração de níquel em µg/L. Como os valores de R^2 (coeficiente de determinação, valor que indica se o estudo foi linear ou não) são próximos de 1, significa que o método é linear até concentrações 20 µg/L. O valor 0,023 no Gráfico 1 e o valor 0,026 do Gráfico 2 indicam as inclinações das respectivas retas.

4.7 Otimização e validação do método

O método foi otimizado conforme a programação de temperaturas que incluíram as melhores condições para pirólise (queima da matéria orgânica) e atomização, que é a temperatura que deixa o metal no estado de excitação e possibilita a leitura da absorbância (eixo y) do mesmo. Estas temperaturas foram: 110°C (secagem), 130°C (secagem), 900°C (pirólise), 2.300°C (atomização) e 2.500°C (limpeza do forno de grafite). A programação adotada, após a otimização, encontra-se descrita na Tabela 2.

Tabela 2 - Programação das temperaturas para análise de níquel por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

Temperatura (°C)	Tempo (s)	Rampa (°C/s)
110	1	30
130	15	30
900	10	20
2300	5	0
2500	3	0

A partir da análise de 10 brancos (cada branco é composto por água ultrapura e solução diluente na concentração utilizada para as amostras de sangue e saliva) e do cálculo dos seus respectivos desvio-padrão (DP), os limites (LD e LQ) foram calculados a partir das seguintes fórmulas:

- $LD = (DP \times 3) / \text{inclinação da reta}$
- $LQ = (DP \times 10) / \text{inclinação da reta}$

A inclinação das retas utilizadas para os cálculos do LD e LQ estão demonstradas nos Gráficos 1 e 2.

Após a otimização, o método foi devidamente validado. Os parâmetros de validação foram o limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e estes estão demonstrados na Tabela 3. O LD refere-se à concentração mínima de níquel que pode ser detectado com uma precisão razoável. Já o LQ refere-se à menor concentração de níquel que pode ser determinada com precisão e veracidade.

Tabela 3 - Dados de validação para a saliva e para o sangue

Parâmetro	Saliva	Sangue
Limite de detecção	0,580	0,507
Limite de quantificação	1,960	1,690

4.8 Análise estatística dos resultados

O conjunto de dados das variáveis não apresentaram aderência à distribuição normal, verificadas através do teste Shapiro-wilk, portanto fez-se necessária a utilização de métodos estatísticos não paramétricos. As concentrações médias de níquel nas amostras de sangue e saliva entre os grupos foram comparados por meio de teste Wilcoxon - pareado. A relação dessas concentrações com a quantidade de cigarro utilizada, tempo de tabagismo, número de cigarros fumados no dia da coleta e no dia anterior à coleta foi determinada por testes de correlação de Spearman. Todos os dados foram organizados em planilha eletrônica do software Excel[®] 2007 e posteriormente analisados nos softwares SPSS 17.0 e Action 2.7.

5 RESULTADOS

Conforme detalhado na metodologia deste trabalho, participaram deste estudo pacientes atendidos no Ambulatório de Estomatologia do HU-UFSC (de novembro de 2013 a julho de 2014). Do total de 23 pacientes, subdivididos em grupo fumante e não fumante, obteve-se a amostra final onde não houve perda durante o período da pesquisa.

A Tabela 4 apresenta a distribuição, o percentual dos pacientes do grupo fumante e não fumante segundo faixa etária, gênero e idade.

Tabela 4 - Perfil dos pacientes dos grupos fumante e não fumante

Variáveis	Fumantes	Não fumantes
Gênero		
Feminino	8 (61,53%)	9 (90,00%)
Masculino	5 (38,46%)	1 (10,00%)
Faixa etária		
39-48 anos	7 (53,85%)	2 (20,00%)
49-58 anos	3 (23,08%)	3 (30,00%)
59-69 anos	3 (23,08%)	5 (50,00%)
Idade dos indivíduos em anos		
Média± DP	49,92 ± 9,01	55,7 ± 8,28

Fonte: Dados da pesquisa

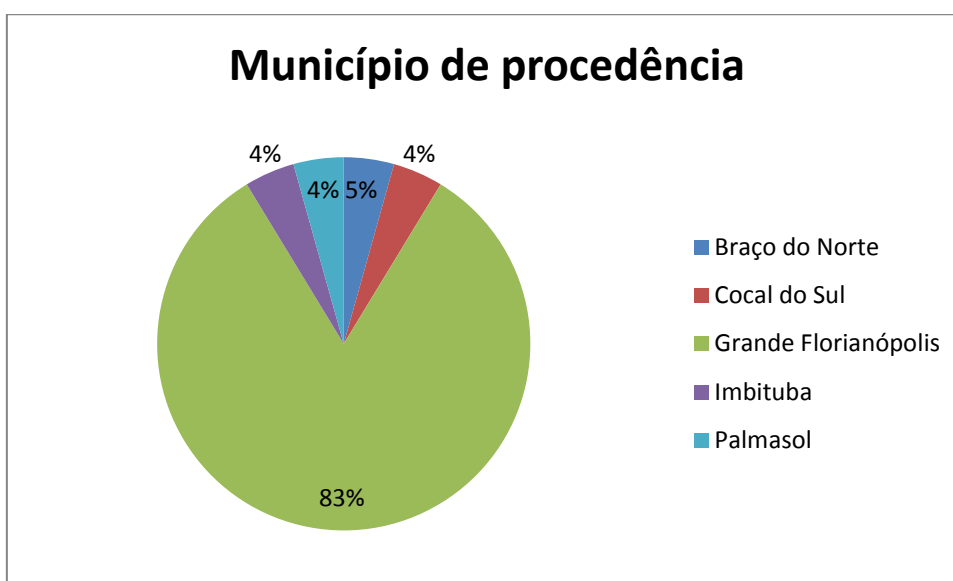
Os dados apresentados na Tabela 5 mostram o hábito do etilismo, as patologias sistêmicas e o uso de medicamentos dos pacientes do grupo fumante e não fumante.

Tabela 5 - Dados sobre etilismo, doenças sistêmicas e medicamentos em uso

Variáveis	Fumante	Não fumante
Etilismo		
Sim	1 (7,69%)	0 (0,00%)
Não	12 (92,31%)	10 (100,00%)
Doenças sistêmicas		
Hipertensão	4 (30,77%)	3 (30,00%)
Diabetes mellitus	3 (23,08%)	2 (20,00%)
Medicamentos		
Anti-hipertensivo	3 (23,08%)	4 (40,00%)
Para diabetes	3 (23,08%)	2 (20,00%)
Anti-depressivo	3 (23,08%)	2 (20,00%)

Fonte: Dados da pesquisa

A procedência dos pacientes de ambos os grupos estão demonstradas logo abaixo no Gráfico 3.

Gráfico 3 - Procedência dos participantes da pesquisa de ambos os grupos.

A Tabela 6 apresenta o período em que foi feita a coleta das amostras.

Tabela 6 - Período da coleta das amostras em valor absoluto e percentual para o grupo fumante e não fumante

Período da coleta	Fumante	Não fumante
Manhã	5 (38,46%)	5 (50,00%)
Fim de tarde	8 (61,53%)	5 (50,00%)

Fonte: Dados da pesquisa

Os dados obtidos para o grupo de pacientes fumantes estão demonstrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Concentrações salivares e sanguíneas de níquel em $\mu\text{g/L}$ nas amostras do grupo de pacientes fumantes

Amostra	Concentração salivar de níquel em $\mu\text{g/L}$	Concentração sanguínea de níquel em $\mu\text{g/L}$
1	4,17	3,12
2	3,01	4,27
3	3,65	0,84
4	7,18	1,91
5	2,35	2,35
6	3,12	6,66
7	4,31	2,45
8	3,84	0,84
9	5,40	0,84
10	7,98	2,23
11	3,15	0,84
12	3,50	1,78
13	3,44	0,84

Fonte: Dados da pesquisa

Os dados obtidos para o grupo de pacientes não fumantes estão demonstrados nas Tabelas 8.

Tabela 8 - Concentrações salivares e sanguíneas de níquel em $\mu\text{g/L}$ nas amostras do grupo de pacientes não fumantes

Amostra	Concentração salivar de níquel em $\mu\text{g/L}$	Concentração sanguínea de níquel em $\mu\text{g/L}$
14	4,31	1,71
15	6,35	0,84
16	4,24	0,84
17	12,79	1,85
18	7,81	0,84
19	11,57	0,84
20	24,21	0,84
21	6,99	0,84
22	3,62	0,84
23	0,98	0,84

Fonte: Dados da pesquisa

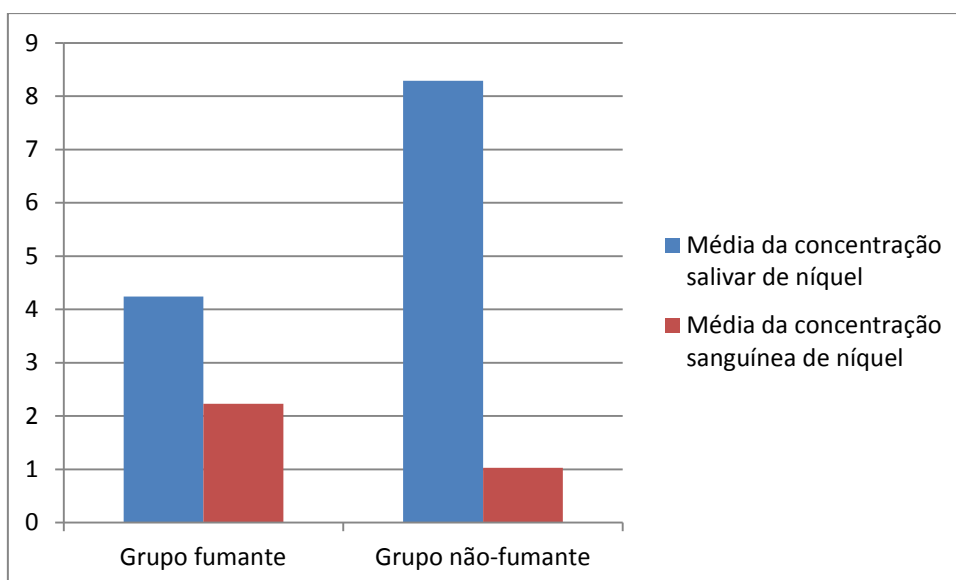
Os dados obtidos para amostras de sangue e saliva do grupo fumante e não fumante estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores obtidos de concentrações de níquel em $\mu\text{g/L}$ nas amostras de saliva e sangue dos grupos de pacientes fumantes e não fumantes

Fatores	Grupo fumante	Grupo não fumante
Saliva		
Mínima	2,35	0,98
Média	4,23	8,28
Máxima	7,98	24,21
Desvio padrão	1,66	6,64
Sangue		
Mínima	0,84	0,84
Média	2,22	1,02
Máxima	6,66	1,85
Desvio padrão	1,69	0,39

Os dados sobre as médias das concentrações das amostras de saliva e sangue estão demonstrados no Gráfico 4.

Gráfico 4 - Média das concentrações salivares e sanguíneas de níquel em $\mu\text{g/L}$ do grupo fumante e não fumante



Ao se comparar as concentrações de níquel nas amostras de saliva do grupo de fumantes e não fumantes, pelo teste de Wilcoxon-pareado, obteve-se valor de $p = 0,047$ ($p < 0,05$), evidenciando diferença estatisticamente significativa. Ao fazer esta mesma comparação para as amostras de sangue, obteve-se valor de $p = 0,021$ ($p < 0,05$), também evidenciando que há diferença estatisticamente significativa entre elas.

Não foi encontrada correlação entre as concentrações salivares e sanguíneas das amostras do grupo fumante com o número de cigarros fumados no dia da coleta, no dia anterior, com a quantidade de cigarros que o indivíduo fuma diariamente e com o tempo de tabagismo, através do teste de Spearman. Os valores de p para as amostras de saliva foram, respectivamente, $p = 0,20$; $p = 0,11$; $p = 0,98$; $p = 0,06$. Para as amostras de sangue foram, respectivamente, $p = 0,31$; $p = 0,79$; $p = 0,90$; $p = 0,71$.

6 DISCUSSÃO

Esta pesquisa visou avaliar a concentração de níquel no sangue e na saliva de pacientes fumantes e não fumantes, visto que o cigarro apresenta níquel na sua composição e este metal pode causar problemas à saúde de quem o consome. As análises foram feitas na saliva e no sangue, já que este último é amplamente estudado em pesquisas semelhantes e a saliva é um fluido de fácil acesso, principalmente para o cirurgião-dentista, que é o profissional que trabalha diretamente com esta secreção. Além disso, a sua coleta é indolor, simples de ser realizada, bem como o seu armazenamento. Este estudo traz novas informações sobre as concentrações desse metal nestas amostras, já que existem poucos estudos que correlacionam o níquel no sangue e, principalmente, na saliva de pacientes fumantes e não fumantes.

Com relação às Tabelas 7 e 8, nas amostras de saliva, apenas uma apresentou concentração de níquel inferior ao LQ; já para as amostras de sangue 13 foram inferiores. Para fins estatísticos, os valores abaixo de LQ foram substituídos pela metade do valor do mesmo, ou seja, 0,98 µg/L para as amostras de saliva e 0,84 µg/L para amostras de sangue. Isso deve ser feito, visto que valores abaixo de LQ se encontram abaixo do qual o método analítico pode operar com precisão e exatidão. Através dos resultados da Tabela 9 percebe-se que as concentrações de níquel em µg/L foram maiores para as amostras de saliva do que para o sangue em ambos os grupos.

De acordo com os resultados não houve correlação entre o número de cigarros fumados no dia da coleta, no dia anterior, a quantidade de cigarros que o indivíduo fuma e o tempo de tabagismo com as concentrações salivares e sanguíneas de indivíduos do grupo fumante. Isso pode ter acontecido devido à variabilidade de marcas e tipos de cigarros consumidos, levando em consideração que cada um apresenta uma concentração diferente de níquel. Isso também pode ter acontecido devido a uma dificuldade em os indivíduos fornecerem as informações referentes ao hábito do tabagismo com grande precisão. Além disso, devido a indisponibilidade dos indivíduos, não foi possível padronizar o horário das coletas.

A média das concentrações de níquel no sangue dos pacientes do grupo fumante foi de 2,22 µg/L e do grupo não fumante foi de 1,02 µg/L, sendo observado, nos resultados, que houve uma diferença estatisticamente significativa. Este resultado é semelhante ao resultado do estudo do STOJANOVIĆ et al. (2004)¹¹, que também relatou aumento na concentração de níquel no sangue em pacientes fumantes quando comparados a pacientes não fumantes.

Segundo pesquisas, as concentrações médias de níquel no sangue de pacientes saudáveis, incluindo pacientes fumantes e não fumantes, variaram de 0,34 µg/L a 4,8 µg/L.^{83; 85} Portanto, nossos valores estão dentro do que já foi observado por outros estudos, bem como a nossa amostra teve um comportamento semelhante ao encontrado na literatura, o que sugere que nosso método de análise foi adequado para quantificar a concentração de níquel nesta amostra.

Parte do níquel que é inalado pela fumaça do cigarro é responsável pelo aumento da concentração sanguínea de níquel.¹² Essa concentração maior de níquel circulante pode contribuir para o desenvolvimento de doenças, que podem ter sua origem na exposição do níquel, como fibrose pulmonar, dermatite de contato, doenças renais, câncer de boca, nasal, de pulmão e bexiga.^{10; 21; 22; 41} Portanto, apesar de o cigarro ser amplamente relacionado às doenças do trato respiratório e da boca, ele também contribui para o aparecimento de doenças que não estão relacionadas a estes locais. Provavelmente, o níquel presente na fumaça pode ter um papel no desenvolvimento dessas doenças, mas não é o único agente presente na fumaça relacionado a estas condições, sendo este metal absorvido pelo organismo e distribuído pelo sangue. Além disso, considerando o fato de parte do níquel circulante no sangue ser excretado pelas glândulas salivares, isso poderá expor a mucosa bucal ao níquel por um tempo maior do que durante o contato direto do cigarro e da fumaça com a mucosa bucal.

A média de concentração de níquel na saliva de pacientes do grupo fumante foi de 4,23 µg/L; já na saliva de pacientes do grupo não fumante foi de 8,28 µg/L, com diferença estatisticamente significativa. Porém este resultado não era o esperado pela pesquisa, pois o esperado era que a média das concentrações de níquel fosse mais alta na saliva dos fumantes devido ao níquel presente no tabaco e, também, porque a concentração de níquel na saliva respondeu de forma contrária a encontrado no sangue. O que pode explicar este resultado inesperado é o fato das amostras 17, 19 e 20 apresentarem concentrações muito elevadas para níquel na saliva e concentrações sanguíneas semelhantes em relação aos demais indivíduos da amostra.

Um estudo relatou que a concentração média de níquel das amostras de saliva foi de 1,9 µg/L e que não houve diferença significativa entre as concentrações médias de níquel nas amostras de saliva de paciente fumantes e não fumantes⁹¹ e que a maioria das substâncias apresenta concentrações menores na saliva quando comparadas no sangue.⁹⁵

A possibilidade de alguma outra fonte de níquel entrar em contato com a cavidade oral pode causar essa elevação na sua concentração diretamente na saliva, sem ter que,

obrigatoriamente, causar uma elevação na concentração sanguínea. A presença de próteses parciais removíveis, núcleos metálicos fundidos, aparelhos ortodônticos, coroas metálicas ou metalocerâmicas^{89;102;103;104} e até mesmo *piercings* orais¹⁰⁵ pode justificar o fato da concentração de níquel aumentar na saliva. Visto que o níquel é um dos dez metais mais encontrados nas ligas odontológicas, é especialmente utilizado nas ligas de fabricação de coroa metalocerâmica e prótese parcial removível.^{102; 103; 104} As ligas à base de níquel-cromo (Ni-Cr) contêm entre 60 a 84% de níquel em sua composição.¹⁰⁴ O níquel também representa cerca de 20 a 30% da composição dos *piercings*. Além disso, o níquel é um elemento que apresenta maior tendência para se liberar das ligas quando comparado a metais nobres, visto que ele apresenta baixa resistência à corrosão e, portanto, é liberado para a saliva quando presente na cavidade bucal.^{102; 106}

Isto pode ter acontecido devido ao fato de que a concentração de níquel presente na saliva não se deve apenas ao níquel absorvido pelo organismo e distribuído pela corrente sanguínea, mas também do níquel presente na própria cavidade oral do paciente proveniente de próteses, aparelhos ortodônticos, restaurações, *piercings*, e ao fluxo e quantidade de saliva presente no momento da coleta. Como, nesta pesquisa, os pacientes fumantes estavam pelo menos 1 hora sem fumar antes da realização das coletas das amostras, minimiza-se a possibilidade de parte deste níquel presente na saliva ser proveniente diretamente da fumaça do cigarro que entra em contato com a cavidade bucal durante o ato de fumar.

Como não foi considerada uma possível exposição ao níquel proveniente da alimentação e não foi realizado o exame intra-oral para verificação de uso de objetos metálicos na cavidade oral, não se pode ter certeza do que realmente afetou os resultados das amostras de saliva, especialmente nos pacientes 17, 19 e 20, entretanto, essas formas de exposição podem ter afetado o resultado. Além disso, o tamanho da amostra é pequeno por se tratar de um estudo piloto, e, portanto, para fins de generalização do resultado, a amostra deverá ser ampliada.

Medicamentos como anti-hipertensivos, para tratar diabetes e antidepressivos alteram o fluxo salivar, diminuindo-o, e normalmente causando hipossalivação e xerostomia.¹⁰⁷ Com isso, talvez possa haver uma interferência na excreção de níquel na saliva. Mas, nesta pesquisa, não houve correlação entre os medicamentos utilizados e as concentrações médias de níquel nas amostras. Isto pode ter ocorrido principalmente porque a quantidade de pacientes que faziam uso dessas medicações, em relação ao total da amostra, era pequena, menos de 50% do total analisado. No entanto, sabe-se que substâncias ingeridas por via oral apresentam-se em altas concentrações na saliva logo após o consumo destas.⁹³

Há a possibilidade de a saliva ser uma forma de excretar o níquel presente no sangue, contribuindo, assim, para a diminuição do seu nível hematológico e, conseqüentemente, aumentando a concentração deste metal na saliva, justificando o fato da média das concentrações de níquel em $\mu\text{g/L}$ tanto no grupo fumante quanto no grupo não fumante, terem sido maiores para a saliva do que para o sangue. Além disso, a excreção de níquel pela urina não foi avaliada neste estudo sendo considerada uma forma bem estabelecida de excreção deste metal.¹² Portanto, a análise urinária da nossa amostra poderia ajudar a elucidar melhor o papel da saliva na excreção.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo concluímos que:

- Foi possível determinar as concentrações de níquel na saliva e no sangue periférico por meio da técnica de espectrometria de absorção atômica;
- Existiu diferença estatisticamente significativa ao comparar as médias das concentrações salivares e sanguíneas de níquel dos grupo fumante e não fumante;
- A média das concentrações salivares de níquel foi maior para o grupo não fumante do que para o grupo fumante, já a média das concentrações sanguíneas de níquel foi maior para o grupo fumante do que para o grupo não fumante;
- Não houve correlação entre as concentrações de níquel encontradas na saliva e no sangue periférico com o hábito do tabagismo.

REFERÊNCIAS

- 1 CSALAR, J.; SZANTAI, K. Saucing of tobacco-cut so as to increase microelement content in the cigarette smoke. Budapest, Hongrie. **Akadémiai K.** 31: p83 - 92, 2002.
- 2 ARAIN, M. B. *et. al.* Hazardous impact of toxic metals on tobacco leaves grown in contaminated soil by ultrasonic assisted pseudo-digestion: multivariate study. **J Hazard Mater**, v. 155, n. 1-2, p. 216-24, 2008.
- 3 SERVICES, U. S. D. O. H. A. H. **Toxicological profile for nickel**. Atlanta, Georgia, 2005.
- 4 ZHANG, C.; MIURA, J.; NAGAOSA, Y. Determination of cadmium, zinc, nickel and cobalt in tobacco by reversed-phase high-performance liquid chromatography with 2-(8-quinolylazo)-4,5-diphenylimidazole as a chelating reagent. **Anal Sci**, v. 21, n. 9, p. 1105-10, 2005.
- 5 RICKERT, W. S.; KAISERMAN, M. J. Level of lead, cadmium, and mercury in canadian cigarette tobacco as indicators of environmental change: results from a 21-year study (1968-1988). **Environ Sci Technol**, v. 28, n. 5, p. 924-7, 1994.
- 6 EL-AGHA, O.; GOKMEN, I. G. Smoking habits and cadmium intake in Turkey. **Biol Trace Elem Res**, v. 88, n. 1, p. 31-43, 2002.
- 7 IWAO, S.; TSUCHIYA, K.; SUGITA, M. Variation of cadmium accumulation among Japanese. **Arch Environ Health**, v. 38, n. 3, p. 156-62, 1983.
- 8 STOJANOVIĆ, D. *et. al.* Biomonitoring of nickel in population of endemic nephropathy settlements: a preliminary study. **Acta Medica Medianae**. 42: p15-18, 2003.
- 9 DORE, A. J. *et. al.* Quantifying missing annual emission sources of heavy metals in the United Kingdom with an atmospheric transport model. **Sci Total Environ**, v. 479-480c, p. 171-180, 2014.
- 10 DENKHAUS, E.; SALNIKOW, K. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 42, n. 1, p. 35-56, 2002.
- 11 STOJANOVIĆ, D.; NIKIĆ, D.; LAZAREVIĆ, K. The level of nickel in smoker's blood and urine. **Cent Eur J Public Health**, v. 12, n. 4, p. 187-9, 2004.
- 12 ATSDR. **Toxicological Profile for Nickel**. SERVICES, U. S. D. O. H. A. H. Atlanta, Georgia, 2005.
- 13 CEMPEL, M.; NIKEL, G. Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology **The Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 3, p. 375-382, 2006.

- 14 THYSSEN, J. P. *et. al.* Effect of tobacco smoking and alcohol consumption on the prevalence of nickel sensitization and contact sensitization. **Acta Derm Venereol**, v. 90, n. 1, p. 27-33, 2010.
- 15 SHARMA, A. D. Relationship between nickel allergy and diet. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v. 73, n. 5, p. 307-12, 2007.
- 16 LEIKIN, J. B.; PAULOUCEK, F. P. **Poisoning and toxicology handbook**. 4th. New York: Informa healthcare, 2008.
- 17 STATES, U. **Respiratory health effects of passive smoking: lung cancer and other disorders**. AGENCY., U. S. E. P. [Washington D.C.]: National Institutes of Health, 1993.
- 18 WHO. **WHO Report on the global Tobacco epidemic, 2008: The MPOWER package**. Geneva, 2008.
- 19 RAM, H. *et. al.* Oral cancer: risk factors and molecular pathogenesis. **J Maxillofac Oral Surg**, v. 10, n. 2, p. 132-7, 2011.
- 20 VIANA, G. F.; GARCIA, K. S.; MENEZES-FILHO, J. A. Assessment of carcinogenic heavy metal levels in Brazilian cigarettes. **Environ Monit Assess**, v. 181, n. 1-4, p. 255-65, 2011.
- 21 BAENA-CAGNANI, C. E. *et. al.* Impact of environmental tobacco smoke and active tobacco smoking on the development and outcomes of asthma and rhinitis. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**, v. 9, n. 2, p. 136-40, 2009.
- 22 STAVRIDES, J. C. Lung carcinogenesis: pivotal role of metals in tobacco smoke. **Free Radic Biol Med**, v. 41, n. 7, p. 1017-30, 2006.
- 23 ERHARDT, L. Cigarette smoking: an undertreated risk factor for cardiovascular disease. **Atherosclerosis**, v. 205, n. 1, p. 23-32, 2009.
- 24 LIU, S. A. **A Literature Analysis of the Risk Factors dor Oral Cancer**. InTech, 2012.
- 25 AMORÍN KAJATT, E. Lung cancer: a review of current knowledge, diagnostic methods and therapeutic perspectives. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 30, n. 1, p. 85-92, 2013.
- 26 SILVERMAN, D. T., *et. al.* **Bladder cancer**. 1101 - 1127 p. 2006.
- 27 FREEDMAN, N. D. *et. al.* Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. **JAMA**, v 306, n 7, p. 737-45, 2011.
- 28 INCA. **A Interferência da Indústria do Tabaco: apresentação e orientações técnicas**. Rio de Janeiro, 2012.

- 29 STATES, U. **How Tobacco Smoke Causes Disease: The biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: A Report of the Surgeon General**. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, C. F. D. C. A. P. N. C. F. C. D. P. A. H. P., OFFICE ON SMOKING AND HEALTH. Atlanta, 2010.
- 30 CHIANG, C. T. *et. al.* Spatiotemporal trends in oral cancer mortality and potential risks associated with heavy metal content in Taiwan soil. **Int J Environ Res Public Health**, v. 7, n. 11, p. 3916-28, 2010.
- 31 JAFFRE, T. *et. al.* The metal hyperaccumulators from New Caledonia can broaden our understanding of nickel accumulation in plants. **Front Plant Sci**, v. 4, p. 279, 2013.
- 32 TORJUSSEN, W.; ZACHARIASEN, H.; ANDERSEN, I. Cigarette smoking and nickel exposure. **J Environ Monit**, v. 5, n. 2, p. 198-201, 2003.
- 33 IARC. **Chromium, nickel and welding**. v. 49, p. 257-445, 1990.
- 34 COSTA, M.; ABBRACCHIO, M. P.; SIMMONS-HANSEN, J. Factors influencing the phagocytosis, neoplastic transformation, and cytotoxicity of particulate nickel compounds in tissue culture systems. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 60, n. 2, p. 313-23, 1981.
- 35 OSKARSSON, A.; TJALVE, H. The distribution and metabolism of nickel carbonyl in mice. **Br J Ind Med**, v. 36, n. 4, p. 326-35, 1979.
- 36 POURKHABBAZ, A.; POURKHABBAZ, H. Investigation of toxic metals in the tobacco of different Iranian cigarette brands and related health issues. **Iran J Basic Med Sci**, v. 15, n. 1, p. 636-44, 2012.
- 37 SHAKYA, P. R. Nickel adsorption by wild type and nickel resistant isolate of chlorella sp. **Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry**, v8, n 1 & 2, p 86-90, 2007.
- 38 FACCIONI, F. *et. al.* In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 124, n. 6, p. 687-93; discussion 693-4, 2003.
- 39 D'ANTO, V. *et. al.* Effect of nickel chloride on cell proliferation. **Open Dent J**, v. 6, p. 177-81, 2012.
- 40 ERMOLLI, M. *et. al.* Nickel, cobalt and chromium-induced cytotoxicity and intracellular accumulation in human hacat keratinocytes. **Toxicology**, v. 159, n. 1-2, p. 23-31, 2001.
- 41 MAN, I. C. O. N. C. I. Report of the International Committee on Nickel Carcinogenesis in Man. **Scand J Work Environ Health**, v. 16, n. 1 Spec No, p. 1-82, 1990.

- 42 OJAJARVI, I. A. *et. al.* Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis. **Occup Environ Med**, v. 57, n. 5, p. 316-24, 2000.
- 43 SEILKOP, S.; OJAJARVI, A.; PARTANEN, T. Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis. **Occup Environ Med**, v. 58, n. 1, p. 63-4, 2001.
- 44 EVM. **Expert Group on Vitamins and Minerals: Revised Review of Nickel.** EVM/99/24, 2002.
- 45 IARC. Nickel and nickel compounds. **IARC Monographs Eval Carcinog Risk Chem Man**, v. 100C, p. 169-218, 2012.
- 46 NTP. **Report on Carcinogens Background for Metallic Nickel and Certain Nickel Alloys.** 2000.
- 47 OLAYINKA, O. K.; OYEDEJI, O. A.; OYEYIOLA, O. A. Removal of chromium and nickel ions from aqueous solution by adsorption on modified coconut husk. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 3, p. 286-293, 2009.
- 48 ANDRADE, M. L. *et. al.* **Níquel - Novos Parâmetros de Desenvolvimento.** AO2/GESIS, 2000.
- 49 ALAM, M. G.; SNOW, E. T.; TANAKA, A. Arsenic and heavy metal contamination of vegetables grown in Samta village, Bangladesh. **Sci Total Environ**, v. 308, n. 1-3, p. 83-96, 2003.
- 50 AGUILERA, I. *et. al.* Biomonitoring of urinary metals in a population living in the vicinity of industrial sources: a comparison with the general population of Andalusia, Spain. **Sci Total Environ**, v. 407, n. 1, p. 669-78, 2008.
- 51 CAPAR, S. G.; CUNNINGHAM, W. C. Element and radionuclide concentrations in food: FDA Total Diet Study 1991-1996. **J AOAC Int**, v. 83, n. 1, p. 157-77, 2000.
- 52 WHO. **Guidelines for drinking-water quality.** Geneva, 1993.
- 53 BIRKE, M. *et. al.* Major and trace elements in German bottled water, their regional distribution, and accordance with national and international standards. **Journal of Geochemical Exploration**, v. 107, n. 3, p. 245-271, 2010.
- 54 FERRANTE, M. *et. al.* Monitoring of heavy metals and trace elements in the air, fruits and vegetables and soil in the province of Catania (Italy). **Ig Sanita Pubbl**, v. 69, n. 1, p. 47-54, 2013.
- 55 SUNDERMAN, F. W., JR. *et. al.* Biological monitoring of nickel. **Toxicol Ind Health**, v. 2, n. 1, p. 17-78, 1986.
- 56 VERMA, S.; YADAV, S.; SINGH, I. Trace metal concentration in different Indian tobacco products and related health implications. **Food Chem Toxicol**, v. 48, n. 8-9, p. 2291-7, 2010.

- 57 VAHTER, M. *et. al.* Gender differences in the disposition and toxicity of metals. **Environ Res**, v. 104, n. 1, p. 85-95, 2007.
- 58 CAVANI, A. Breaking tolerance to nickel. **Toxicology**, v. 209, n. 2, p. 119-21, 2005.
- 59 KITAURA, H. *et. al.* Induced sensitization to nickel in guinea pigs immunized with mycobacteria by injection of purified protein derivative with nickel. **New Microbiol**, v. 26, n. 1, p. 101-8, 2003.
- 60 KASPRZAK, K. S.; SUNDERMAN, F. W., JR.; SALNIKOW, K. Nickel carcinogenesis. **Mutat Res**, v. 533, n. 1-2, p. 67-97, 2003.
- 61 NIOSH. **National occupational exposure survey**. SERVICES, D. O. H. A. H. Cincinnati, OH: Public Health Service, Centers for Disease Control, National Institute for Occupational Safety and Health, 1990.
- 62 WHO. **Environmental Health Criteria 108: Nickel**. (IPCS), I. P. O. C. S. Geneva, 1991.
- 63 EDELMAN, D. A.; ROGGLI, V. L. The accumulation of nickel in human lungs. **Environ Health Perspect**, v. 81, p. 221-4, 1989.
- 64 ANDERSEN, I.; SVENES, K. B. Determination of nickel in lung specimens of thirty-nine autopsied nickel workers. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 61, n. 4, p. 289-95, 1989.
- 65 OLIVEIRA, J. P.; DE SIQUEIRA, M. E.; DA SILVA, C. S. Urinary nickel as bioindicator of workers' Ni exposure in a galvanizing plant in Brazil. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 73, n. 1, p. 65-8, 2000.
- 66 TORJUSSEN, W.; ANDERSEN, I. Nickel concentrations in nasal mucosa, plasma, and urine in active and retired nickel workers. **Ann Clin Lab Sci**, v. 9, n. 4, p. 289-98, 1979.
- 67 ROSATI, M. V. *et. al.* Nickel and blood counts in workers exposed to urban stressors. **Toxicol Ind Health**, 2014.
- 68 BAI, Y. N. *et. al.* Nickel-exposed workers in China: a cohort study. **Biomed Environ Sci**, v. 27, n. 3, p. 208-11, 2014.
- 69 ARENA, V. C. *et. al.* Using alternative comparison populations to assess occupation-related mortality risk. Results for the high nickel alloys workers cohort. **J Occup Environ Med**, v. 40, n. 10, p. 907-16, 1998.
- 70 BARCELOUX, D. G. Nickel. **J Toxicol Clin Toxicol**, v. 37, n. 2, p. 239-58, 1999.
- 71 ZHAO, J. *et. al.* Occupational toxicology of nickel and nickel compounds. **J Environ Pathol Toxicol Oncol**, v. 28, n. 3, p. 177-208, 2009.

- 72 EURA. **Report for nickel metal**. Copenhagen, Denmark: European Communities, 2008.
- 73 LIU, L. *et. al.* UV-induced carbonyl generation with formic acid for sensitive determination of nickel by atomic fluorescence spectrometry. **Talanta**, v. 80, n. 3, p. 1239-44, 2010.
- 74 SIVULKA, D. J. Assessment of respiratory carcinogenicity associated with exposure to metallic nickel: a review. **Regul Toxicol Pharmacol**, v. 43, n. 2, p. 117-33, 2005.
- 75 VINCENT, J. H. **Aerosol Sampling: science, standards, instrumentation and applications**. London, UK. John Wiley & Sons, 1989.
- 76 ELIADES, T.; ATHANASIOU, A. E. In vivo aging of orthodontic alloys: implications for corrosion potential, nickel release, and biocompatibility. **Angle Orthod**, v. 72, n. 3, p. 222-37, 2002.
- 77 SOLOMONS, N. W. *et. al.* Bioavailability of nickel in man: effects of foods and chemically-defined dietary constituents on the absorption of inorganic nickel. **J Nutr**, v. 112, n. 1, p. 39-50, 1982.
- 78 SCHAUMLOFFEL, D. Nickel species: analysis and toxic effects. **J Trace Elem Med Biol**, v. 26, n. 1, p. 1-6, 2012.
- 79 KORNIK, R.; ZUG, K. A. Nickel. **Dermatitis**, v. 19, n. 1, p. 3-8, 2008.
- 80 COOGAN, T. P. *et. al.* Toxicity and carcinogenicity of nickel compounds. **Crit Rev Toxicol**, v. 19, n. 4, p. 341-84, 1989.
- 81 MICHALAK, I. *et. al.* Exposure to nickel by hair mineral analysis. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 34, n. 3, p. 727-34, 2012.
- 82 OLMEDO, P. *et. al.* Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Anal Chim Acta**, v. 659, n. 1-2, p. 60-7, 2010.
- 83 LINDEN, J. V. *et. al.* Blood nickel concentrations in patients with stainless-steel hip prostheses. **Ann Clin Lab Sci**, v. 15, n. 6, p. 459-64, 1985.
- 84 SUNDERMAN, F. W., JR. *et. al.* Rapid analysis of nickel in urine by electrothermal atomic absorption spectrophotometry. **Ann Clin Lab Sci**, v. 16, n. 3, p. 219-30, 1986.
- 85 NOMOTO, S.; SUNDERMAN, F. W., JR. Atomic absorption spectrometry of nickel in serum, urine, and other biological materials. **Clin Chem**, v. 16, n. 6, p. 477-85, 1970.
- 86 DARSOW, U. *et al.* Influence of dietary factors, age and nickel contact dermatitis on nickel excretion. **Contact Dermatitis**, v. 67, n. 6, p. 351-8, 2012.

- 87 MENEZES, L. M.; QUINTAO, C. A.; BOLOGNESE, A. M. Urinary excretion levels of nickel in orthodontic patients. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 131, n. 5, p. 635-8, 2007.
- 88 BURGUERA, E. *et. al.* Determination of nickel in saliva by electrothermal atomic absorption spectrometry using various chemical modifiers with Zeeman-effect background correction. **J Trace Elem Med Biol**, v. 12, n. 2, p. 115-20, 1998.
- 89 AGAOGLU, G. *et. al.* Nickel and chromium levels in the saliva and serum of patients with fixed orthodontic appliances. **Angle Orthod**, v. 71, n. 5, p. 375-9, 2001.
- 90 FORS, R.; PERSSON, M. Nickel in dental plaque and saliva in patients with and without orthodontic appliances. **Eur J Orthod**, v. 28, n. 3, p. 292-7, 2006
- 91 CATALANATTO, F. A.; SUNDERMAN, F. W., Jr. Nickel concentrations in human parotid saliva. **Ann Clin Lab Sci**, v. 7, n. 2, p. 146-51, 1977.
- 92 GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2011.
- 93 APS, J. K.; MARTENS, L. C. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. **Forensic Sci Int**, v. 150, n. 2-3, p. 119-31, 2005.
- 94 CHICHARRO, J. L. *et. al.* Saliva composition and exercise. **Sports Med**, v. 26, n. 1, p. 17-27, 1998.
- 95 CADORE, E. *et. al.* Correlations between serum and salivary hormonal concentrations in response to resistance exercise. **J Sports Sci**, v. 26, n. 10, p. 1067-72, 2008.
- 96 HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **J Prosthet Dent**, v. 85, n. 2, p. 162-9, 2001.
- 97 WANG, D.; DU, X.; ZHENG, W. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. **Toxicol Lett**, v. 176, n. 1, p. 40-7, 2008.
- 98 STRANO-ROSSI, S.; COLAMONICI, C.; BOTRE, F. Parallel analysis of stimulants in saliva and urine by gas chromatography/mass spectrometry: perspectives for "in competition" anti-doping analysis. **Anal Chim Acta**, v. 606, n. 2, p. 217-22, 2008.
- 99 KOSEKI, M. *et. al.* Salivary flow and its relationship to oral signs and symptoms in patients with dry eyes. **Oral Dis**, v. 10, n. 2, p. 75-80, 2004.
- 100 NAVAZESH, M. Methods for collecting saliva. **Ann N Y Acad Sci**, v. 694, p. 72-7, 1993.
- 101 NAVAZESH, M.; KUMAR, S. K. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. **J Am Dent Assoc**, v. 139 Suppl, p. 35S-40S, 2008.

- ¹⁰² GALO, R. *et. al.* Effects of chemical composition on the corrosion of dental alloys. **Braz Dent J**, v. 23, n. 2, p. 141-8, 2012.
- ¹⁰³ RECLARU, L. *et. al.* Ni-Cr based dental alloys; Ni release, corrosion and biological evaluation. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 32, n. 6, p. 1452-60, 2012.
- ¹⁰⁴ CHEN, B. *et. al.* Urinary levels of nickel and chromium associated with dental restoration by nickel-chromium based alloys. **Int J Oral Sci**, v. 5, n. 1, p. 44-8, 2013.
- ¹⁰⁵ GUTSCHE, P.; SCHMALZ, G.; LANDTHALER, M. Prevalence of piercing in a German population. **Eur J Dermatol**, v. 18, n. 1, p. 26-8, 2008.
- ¹⁰⁶ WATAHA, J. C.; DRURY, J. L.; CHUNG, W. O. Nickel alloys in the oral environment. **Expert Rev Med Devices**, v. 10, n. 4, p. 519-39, 2013.
- ¹⁰⁷ NONZEE, V.; MANOPATANAKUL, S.; KHOVIDHUNKIT, S. O. Xerostomia, hyposalivation and oral microbiota in patients using antihypertensive medications. **J Med Assoc Thai**, v. 95, n. 1, p. 96-104, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TCLE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “**Avaliação dos níveis salivares e sanguíneos de níquel em indivíduos fumantes e portadores de carcinoma de células escamosas bucais – estudo piloto**”, a ser desenvolvida pelas alunas de Odontologia **Georgia Feller** e **Heloisa Krieger**, e pelo **Prof. Dr. Filipe Daniel**.

Objetivos: Avaliar a quantidade de níquel na saliva e sangue de indivíduos fumantes e não fumantes, com e sem câncer de boca.

Justificativa: O cigarro contém vários metais como o níquel. Assim, com este estudo, poderemos estimar a quantidade de níquel absorvida pelo seu corpo e o quanto fica em contato com a mucosa bucal. Como o níquel é uma substância cancerígena, queremos relacionar sua quantidade com a presença ou não do câncer bucal.

Metodologia: Ao participar da pesquisa você será submetido a:

- preenchimento de um questionário com dados pessoais, informações sobre sua doença bucal e sobre o uso ou não cigarro; Poderão ser obtidas informações a partir de seu prontuário hospitalar;
- coleta de sangue: como você será submetido a uma biópsia bucal para determinar o diagnóstico de sua doença, já serão solicitados rotineiramente exames de sangue pré-operatórios. Ao participar desta pesquisa, serão reservados uma quantidade de 5 mL de seu sangue para pesquisar a presença de níquel;
- coleta de saliva: você deverá depositar num frasco fornecido pelos pesquisadores toda a saliva que se acumular na sua boca, num período de 5 minutos.

Benefícios: Os benefícios esperados envolvem a produção de conhecimento científico podendo servir de base para outros estudos futuros.

Desconfortos/Riscos: Antes de coletar a saliva e sangue, pediremos que você fique 1 hora sem fumar, o que poderá trazer certo desconforto/ansiedade. A coleta de sangue poderá provocar hematoma/dor/desconforto local, mas é um procedimento que você já irá fazer para permitir a realização da biópsia. A coleta de 5 ml de sangue adicional não deverá trazer desconforto adicional. Essa coleta será realizada por profissional capacitado e experiente no Laboratório do HU/UFSC, tomando todos os cuidados para minimizar os riscos. Durante a coleta de saliva, se você se sentir constrangido por estar colocando sua saliva num pote, poderemos deixá-lo sozinho na sala, durante o tempo de coleta. A todo momento iremos tomar os cuidados técnicos e de biossegurança, de modo a minimizar qualquer risco.

Outras informações: O Sr(a) tem a garantia que receberá respostas ou esclarecimentos a todas as suas perguntas sobre os assuntos relacionados ao trabalho, por meio do contato com os pesquisadores, que assumem o compromisso de proporcionar informações atualizadas obtidas durante o estudo. O Sr(a) não terá nenhuma despesa decorrente desta pesquisa, poderá se recusar a responder as perguntas que tragam constrangimento e tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, sem qualquer represália/prejuízo a seu atendimento, através dos telefones (48) **37219473/99571448** (pesquisador), **37219206** (Comitê de Ética em Pesquisa) ou e-mail filipe.daniel@ufsc.br. Os pesquisadores declaram que cumprirão as exigências contidas na Resolução CNS 466/2012 e que o sigilo dos participantes será garantido durante todas as etapas da pesquisa, inclusive na divulgação dos resultados.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO

Eu,....., portador do RG/CPF:..... concordo em participar deste trabalho, bem como com a utilização dos dados coletados, desde que seja mantido o sigilo de minha identificação, conforme normas do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos. A minha participação é voluntária podendo ser suspensa a qualquer momento. Pelo presente consentimento, declaro que fui esclarecido sobre a pesquisa a ser realizada, de forma detalhada, livre de qualquer constrangimento e obrigação, e que recebi uma cópia deste termo, assinada pelos pesquisadores.

Florianópolis, de de 201...

Assinatura do participante

Filipe Ivan Daniel
Pesquisador Principal
(48)37219473 / 99571448
Email:
filipe.daniel@ufsc.br

Georgia Feller
(48)99620781
Email:
gezinha_nt@hotmail.com

Heloisa Krieger
(47)99112913/
(48)99902900
Email:
helolinha@hotmail.com

APÊNDICE B – CADASTRO DO PACIENTE

CADASTRO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____

Sexo: () M () F - Raça: () Branca () Negra () Amarela () Outra: _____

D.N.: ____/____/____

Ocupação atual? : _____ Há quanto tempo trabalha nesta ocupação? _____

Ocupações anteriores:

Ocupação 1: _____ de quando até quando? _____
há quanto tempo não trabalha mais nesta ocupação? _____

Ocupação 2: _____ de quando até quando? _____
há quanto tempo não trabalha mais nesta ocupação? _____

Ocupação 3: _____ de quando até quando? _____
há quanto tempo não trabalha mais nesta ocupação? _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Município: _____

Indústrias próximas à residência ou ao local de trabalho: _____

Telefones para contato: _____

Registro Hospitalar: _____

HISTÓRIA MÉDICA PREGRESSA:

Doenças prévias: _____

Medicamentos em uso: _____

DIAGNÓSTICO DA LESÃO BUCAL

Diagnóstico clínico: _____

Diagnóstico histopatológico: _____

Número do laudo: _____

HÁBITOS:

() Não fumante

() Fumante:

Tempo: _____ anos

Quantidade: _____ cigarros/dia (atual)

() Ex-fumante:

Parou há _____ anos

Fumou por _____ anos

Quantidade: _____ cigarros/dia

() Convive com fumante(s) em casa

Fica exposto quantas horas/dia _____

() Não convive fumante(s) em casa

() Convive com fumante(s) durante o trabalho

Fica exposto quantas horas/dia _____

() Não convive com fumante(s) durante o trabalho

() Não etilista

() Etilista - Tempo: _____ anos

() Ex-etilista:

Parou há _____ anos

Bebeu por _____ anos

COLETA

*Quantidade de cigarros fumados no dia da coleta: _____

Marca: _____ Tipo: _____

*Quantidade de cigarros fumados no dia anterior: _____

Marca: _____ Tipo: _____

*Qual é a marca de cigarros que consome: _____

*Horário do término do ultimo cigarro fumado: _____

*Horário da coleta: _____

ANEXOS

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos níveis salivares e sanguíneos de níquel em indivíduos fumantes e portadores de carcinoma de células escamosas bucais e estudo piloto

Pesquisador: FILIPE IVAN DANIEL

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 23649013.5.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 467.387

Data da Relatoria: 25/11/2013

Apresentação do Projeto:

"Avaliação dos níveis salivares e sanguíneos de níquel em indivíduos fumantes e portadores de carcinoma de células escamosas bucais e estudo piloto". Pesquisa observacional transversal que visa analisar, por meio de espectrometria de absorção atômica, a quantidade de níquel presente na saliva e no sangue de 30 indivíduos (fumantes, não fumantes, portadores e não portadores de carcinoma de células escamosas bucais).

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral é avaliar a concentração salivar e sérica de níquel em indivíduos fumantes e portadores de carcinoma de células escamosas bucais e, os específicos

são: a) determinar a concentração de níquel em saliva e sangue periférico por meio da técnica de espectrometria de absorção atômica; b) comparar e relacionar os níveis encontrados na saliva e sangue periférico entre si e com a quantidade de cigarro consumida diariamente; c) correlacionar os resultados obtidos a partir de pacientes portadores de carcinoma de células escamosas bucais com os grupos controle (tabagistas e não tabagistas).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: segundo os pesquisadores poderá haver desconforto do participante quando o mesmo estiver respondendo às perguntas de cunho pessoal durante o questionário. Além disso,

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima

Bairro: Trindade

CEP: 88.040-900

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3721-9206

Fax: (48)3721-9696

E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 467.387

para a coleta das amostras, será solicitado que o mesmo permaneça sem fumar por pelo menos 1 hora, o que poderá trazer ansiedade e outros desconfortos. Durante a coleta de sangue, os riscos aos quais os pacientes estarão sujeitos são aqueles próprios da técnica de punção venosa como dor, desconforto local, formação de pequeno hematoma e infecção local. Os pesquisadores ressaltam que, como esta coleta será realizada por

profissional habilitado do Laboratório de Análises clínicas do HU/UFSC, todas as medidas preventivas e de biossegurança para minimizar e/ou eliminar estes riscos serão tomadas. Além disso, como este procedimento já é realizado rotineiramente como parte de protocolo pré-cirúrgico do Ambulatório de Estomatologia do HU/UFSC, estes riscos não são adicionais àqueles aos quais os pacientes estariam expostos e que são necessários ao estabelecimento de seu diagnóstico definitivo. Quanto à coleta de saliva, por se tratar de uma técnica não invasiva, não são esperados desconfortos. Entretanto, se houver algum constrangimento durante o período de coleta da saliva, o participante poderá realizar esta etapa isoladamente numa sala reservada, sem a presença de qualquer outra pessoa (inclusive do(s) pesquisador(es)).

Benefícios: os resultados obtidos poderão ser utilizados para confirmar se a saliva se mostra adequada como um substrato para análise da quantidade de níquel absorvida pelo corpo a partir do cigarro. Além disso, também permitirá demonstrar se os níveis mais elevados estão correlacionados com a quantidade de cigarro consumida diariamente e/ou com a presença de câncer de boca. Também, os resultados poderão ser utilizados para inferir se

aqueles indivíduos que apresentem maiores níveis salivares e sanguíneos de níquel apresentam ou não maior risco para o desenvolvimento do câncer bucal.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata o presente de um Projeto de Pesquisa do Departamento de Patologia da UFSC que visa estudar, através da técnica de espectrometria de absorção atômica, a quantidade de níquel presente na saliva e no sangue de 30 indivíduos (fumantes, não fumantes, portadores e não portadores de carcinoma de células escamosas bucais). As amostras de tecidos a serem estudadas serão a partir de 30 pacientes atendidos no Ambulatório de Estomatologia do Hospital Universitário da UFSC (HU-UFSC). Projeto bem estruturado com critérios de inclusão e exclusão claros, documentação completa e TCLE adequado aos participantes. Recomendamos a sua aprovação.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação completa.

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima			
Bairro: Trindade		CEP: 88.040-900	
UF: SC	Município: FLORIANOPOLIS		
Telefone: (48)3721-9206	Fax: (48)3721-9696	E-mail: cep@reitoria.ufsc.br	

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 467.387

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FLORIANOPOLIS, 25 de Novembro de 2013

Assinador por:
Washington Portela de Souza
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-9206 **Fax:** (48)3721-9696 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br